



**ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ
ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΒΙΟΥΔΡΟΓΟΝΟΥ ΑΠΟ ΓΛΥΚΕΡΙΝΗ ΣΕ
ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΑΛΛΑ ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ»**



**ΣΠΟΥΔΑΣΤΕΣ: ΓΙΑΤΡΟΠΟΥΛΗ ΑΝΝΑ
ΜΑΘΙΟΥΔΑΚΗΣ ΓΙΩΡΓΟΣ
ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: Δρ. ΦΟΥΝΤΟΥΛΑΚΗΣ ΜΙΧΑΛΗΣ**

ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΑΠΡΙΛΙΟΣ 2009

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	3
1. ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ.....	4
1.1 Γενικά.....	4
1.2 Τα στάδια της αναερόβιας χώνευσης.....	6
1.3 Ανάσχεση της μεθανογένεσης με στόχο την παραγωγή υδρογόνου.....	9
1.4 Αναερόβιος μεταβολισμός οργανικής ύλης για παραγωγή υδρογόνου.....	11
1.4.1 Υδρόλυση στην αναερόβια χώνευση.....	14
1.4.2 Οξογένεση στην αναερόβια χώνευση.....	16
1.4.2.1 Ζύμωση σακχάρων και προϊόντα.....	16
1.5 Παράγοντες που επηρεάζουν την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου.....	16
1.5.1 Θρεπτικά συστατικά και παρεμποδιστές.....	16
1.5.2 Λειτουργικές παράμετροι.....	17
1.5.3 Μερική πίεση υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα.....	18
1.5.4 Αξιοποίηση των προϊόντων της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου.....	19
1.6 Εκκίνηση (Start up) βιοαντιδραστήρων παραγωγής υδρογόνου.....	19
1.7 Παράγοντες που επηρεάζουν τη ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου.....	22
1.7.1 Το pH.....	22
1.7.2 Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT).....	24
1.7.3 Η συγκέντρωση του υποστρώματος και των θρεπτικών.....	25
1.7.4 Η μερική πίεση της συγκέντρωσης του υδρογόνου και η ανάδευση.....	27
1.7.5 Η θερμοκρασία.....	28
1.7.6 Οι μικροοργανισμοί χρήστες υδρογόνου και οι παρεμποδιστές.....	29
2. ΓΛΥΚΕΡΙΝΗ ΚΑΙ ΆΛΛΑ ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ.....	31
2.1 Γλυκερίνη.....	31
2.2 Υγρά απόβλητα ελαιουργείων.....	32
2.3 Απόβλητα σφαγείων.....	36
2.4 Βιολογικές μέθοδοι επεξεργασίας.....	38
2.5 Αστικά οργανικά απορρίμματα.....	40
2.5.1 Κυριότερες μέθοδοι διάθεσης απορριμμάτων.....	42
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	43
3.1 Εισαγωγή.....	43
3.2 Μέτρηση pH.....	43
3.3 Προσδιορισμός χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (ΧΑΟ).....	43
3.4 Προσδιορισμός ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών.....	44
3.5 Περιγραφή της μεθόδου μέτρησης πτητικών λιπαρών οξέων και σύστασης βιοαερίου.....	44
3.6 Προσδιορισμός αμμωνίας και ολικού αζώτου κατά Kjeldahl.....	45
3.7 Προσδιορισμός ολικών και διαλυτών υδατανθράκων.....	45
4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ.....	47
4.1 Πειραματική διάταξη.....	47
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	49
5.1 Οργανικό κλάσμα αστικών απορριμμάτων.....	50
5.2 Απόβλητα ελαιοτριβείων και σφαγείων.....	52
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	56

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Υδρογόνο, το όνομα του στοιχείου αυτού δόθηκε από το Γάλλο χημικό Antoine Lavoisier και προέρχεται από τις λέξεις της αρχαίας ελληνικής γλώσσας «ύδωρ» και «γένομαι». Αναγνωρίστηκε ως ξεχωριστό στοιχείο, για πρώτη φορά, από τον Άγγλο χημικό Henry Cavendish, το 1766.

Το υδρογόνο σε θερμοκρασία δωματίου, βρίσκεται σε αέρια φάση. Είναι άοσμο, άχρωμο, μη τοξικό και εύφλεκτο. Όταν αέριο υδρογόνο καίγεται, σχηματίζεται νερό. Μπορεί να συνδυαστεί χημικά με πάρα πολλά στοιχεία, δίνοντας μεγαλύτερες ενώσεις, όπως το νερό και διάφοροι υδρογονάνθρακες, όπως το πετρέλαιο και το φυσικό αέριο. Σε καθαρή αέρια μορφή συναντάται σπάνια, παρόλο που πολλά ορυκτά και όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί περιέχουν ενώσεις του, σε πολύ μεγάλο βαθμό. Έτσι το υδρογόνο βρίσκεται σε αφθονία στο σύμπαν, αφού εμπεριέχεται στα κύτταρα, στην κερατίνη, στα ένζυμα που συντελούν στην πέψη, στα μόρια του DNA, ενώ βρίσκεται άφθονο στις τροφές υπό τη μορφή λιπών, πρωτεϊνών και υδρογονανθράκων.

Η ατμόσφαιρα αποτελείται από υδρογόνο σε ποσοστό 0.07%, ενώ στην επιφάνεια της γης το 0.14 % είναι υδρογόνο. Είναι το ελαφρύτερο στοιχείο του Περιοδικού Πίνακα, καθώς η μάζα 1 L υδρογόνου ζυγίζει μόλις 0.09 g, ενώ 1 L αέρα ζυγίζει 1.2 g.

1.ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ

1.1 Γενικά

Η αναερόβια χώνευση αποτελεί μια από τις βασικότερες και πιο παραδοσιακές μεθόδους επεξεργασίας (σταθεροποίησης) της βιολογικής ιλύος, που παράγεται κατά την πρωτοβάθμια και δευτεροβάθμια επεξεργασία αστικών αποβλήτων. Ωστόσο, για περισσότερες από δύο δεκαετίες η αναερόβια χώνευση έχει εφαρμοστεί με επιτυχία για την επεξεργασία υγρών και στερεών αποβλήτων υψηλού οργανικού ρυπαντικού φορτίου.

Η αναερόβια χώνευση είναι μια πολύπλοκη βιολογική διεργασία, κατά την οποία η οργανική ύλη καταβολίζεται από αυστηρά αναερόβιους ή προαιρετικά αναερόβιους μικροοργανισμούς στο σκοτάδι απουσία εξωτερικών αποδεκτών ηλεκτρονίων (π.χ. οξυγόνο, νιτρικά ιόντα, θειικά ιόντα), παράγοντας κυρίως μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα. Η αναερόβια χώνευση λαμβάνει χώρα σε πολλά αναερόβια οικοσυστήματα (ιζήματα, έλη, στομάχι βοοειδών κ.α.).

Ένα από τα πλεονεκτήματα της αναερόβιας χώνευσης, εκτός από τη σταθεροποίηση της βιολογικής ιλύος, είναι η ανάκτηση χρήσιμων προϊόντων, όπως αλκοολών, πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs) και ενέργειας υπό τη μορφή υδρογόνου και μεθανίου [Hwang et. Al., 2004]. Η ανάκτηση ενέργειας έχει εστιαστεί στο μεθάνιο, το τελικό προϊόν της αναερόβιας χώνευσης, παρόλο που η παραγωγή και η χρήση του παρουσιάζει αρκετά προβλήματα (π.χ. συνεισφορά στο φαινόμενο του θερμοκηπίου κ.α.). Αντίθετα, το υδρογόνο του οποίου η παραγωγή μέσω της αναερόβιας χώνευσης έχει προταθεί και αναπτυχθεί επιτυχώς από αρκετούς ερευνητές, θεωρείται ιδανικότερο καύσιμο με πάρα πολλά πλεονεκτήματα.

Το βασικό πλεονέκτημα του υδρογόνου, ως φορέας ενέργειας, είναι η ολοσχερής απουσία ρυπογόνων εκπομπών, μιας και η χρήση του μέσω καύσης παράγει αποκλειστικά καθαρό νερό. Ιδανική τεχνολογική και

ενεργειακή εφαρμογή της καύσης του, αποτελούν οι κυψελίδες καυσίμου, που επιτρέπουν την παραγωγή ηλεκτρισμού από την ένωση υδρογόνου και οξυγόνου που υπάρχει στον αέρα.

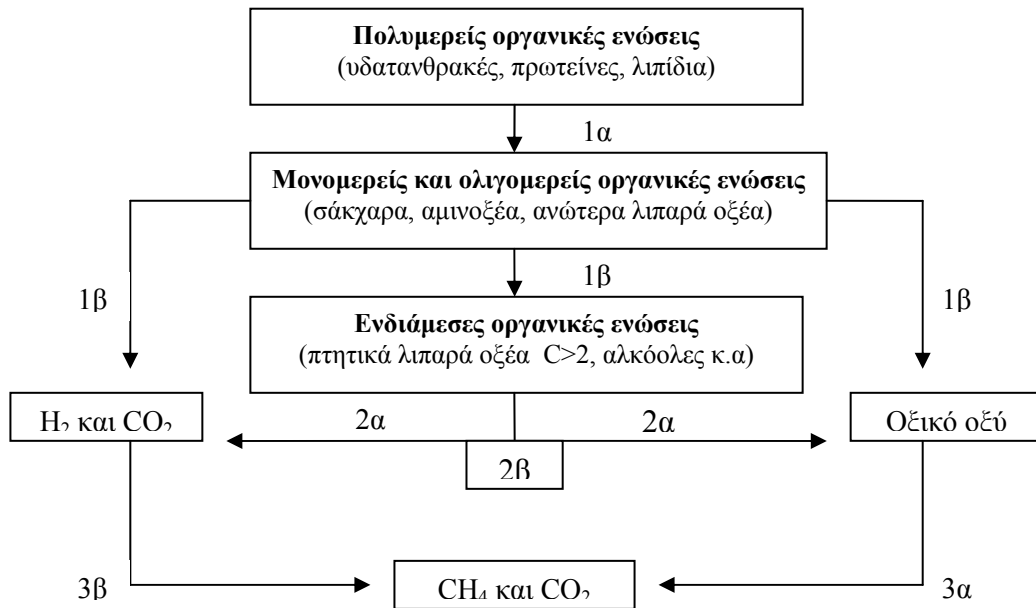
Ένα άλλο πλεονέκτημα της χρήσης του υδρογόνου ως καύσιμο, είναι ότι παρουσιάζει υψηλότερη ενεργειακή απόδοση ανά μονάδα βάρους (122 kJ/ kg), συγκρινόμενη με άλλα καύσιμα. Έτσι, το ενεργειακό του περιεχόμενο είναι περίπου τρεις φορές μεγαλύτερο από αυτό της συμβατικής βενζίνης, 2.4 φορές μεγαλύτερο από αυτό του μεθανίου (50 kJ/kg) και περίπου πέντε φορές μεγαλύτερο από το αντίστοιχο, της αιθανόλης (26 kJ/kg).

Ένα ακόμα πλεονέκτημα της χρήσης του υδρογόνου είναι ότι μπορεί να παρασκευαστεί με πάρα πολλές μεθόδους, σε οποιαδήποτε χώρα και σε οποιοδήποτε μέρος, γεγονός που συνεπάγεται την ανάπτυξη αποκεντροποιημένων συστημάτων παραγωγής ενέργειας. Αυτό παρουσιάζει σημαντικά οφέλη, για τα λιγότερο ανεπτυγμένα κράτη, τα οποία σήμερα εξαρτώνται ενεργειακά από άλλες, ισχυρότερες χώρες.

Από την άλλη πλευρά, βασικό μειονέκτημα που σχετίζεται με την χρήση του υδρογόνου, είναι η δυσκολία στην αποθήκευση και την μεταφορά του, κυρίως στα ηλεκτροκίνητα οχήματα. Το πρόβλημα, όμως αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί με την εφαρμογή σύγχρονων τεχνολογιών, όπως με τη χρήση μεταλλικών υβριδίων, τα οποία έχουν την δυνατότητα να ροφούν το υδρογόνο σε θερμοκρασία δωματίου και χαμηλές πιέσεις (Ramachandran και Menon, 1988; Noike και Mizuno, 2000) είτε με την αποθήκευσή του ως συμπιεσμένο αέριο ή κρυογενικό υγρό. Μια ακόμα υποψήφια λύση στο πρόβλημα αυτό, είναι η αποθήκευση του υδρογόνου στο εσωτερικό μιας νέας μορφής άνθρακα, των νανοσωλήνων άνθρακα, που επιτυγχάνουν να ροφούν και να αποδίδουν το υδρογόνο, σε συνθήκες περιβάλλοντος (Ajayan και Zhou, 2001).

1.2 Τα στάδια της αναερόβιας χώνευσης

Κατά την αναερόβια χώνευση η οργανική ύλη μετατρέπεται κυρίως σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα μέσω μιας σειράς αλυσιδωτών αντιδράσεων, οι οποίες λαμβάνουν χώρα από διακριτές ομάδες αναερόβιων μικροοργανισμών. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, κυρίως τρεις σημαντικές ομάδες μικροοργανισμών έχουν απομονωθεί και ταυτοποιηθεί και θεωρείται ότι, παίζουν σημαντικό ρόλο στη διεργασία της αναερόβιας βιοαποδόμησης της οργανικής ύλης, η οποία λαμβάνει χώρα σε τέσσερα στάδια [Ahring, 2003]. Σύμφωνα με το σχήμα 1.1, τα υδρολυτικά βακτήρια (1α) υδρολύουν τις πολυμερείς οργανικές ενώσεις προς μονομερή ή ολιγομερή, τα οποία στη συνέχεια, κατά το στάδιο της οξεογένεσης/ζύμωσης, μεταβολίζονται από τα ζυμωτικά βακτήρια (1β) σε πτητικά λιπαρά οξέα, αλκοόλες κ.α. , με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα. Στο στάδιο της οξικογένεσης, συντελείται η μετατροπή των ανωτέρων πτητικών λιπαρών οξέων καθώς και των αλκοολών σε οξικό οξύ με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα από τα υποχρεωτικά οξικογόνα βακτήρια παραγωγής υδρογόνου (2α). Επίσης, ομοοξικογόνα βακτήρια (2β) παράγουν οξικό οξύ από υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα. Τέλος, κατά το τέταρτο στάδιο της αναερόβιας ζύμωσης, τη μεθανογένεση, μεθάνιο παράγεται είτε από οξικό μέσω των οξικολυτικών μεθανογόνων βακτηρίων (3α) είτε από υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα μέσω των μεθανογόνων βακτηρίων που χρησιμοποιούν το υδρογόνο για να ανάγουν το διοξείδιο του άνθρακα προς μεθάνιο (3β). Είναι γνωστό ότι περίπου 65-70% του παραγόμενου μεθανίου προέρχεται από τα οξικολυτικά μεθανογόνα βακτήρια. Το γεγονός αυτό καθιστά το οξικό οξύ ως το σπουδαιότερο υπόστρωμα των μεθανογόνων κατά την αναερόβια χώνευση.



Σχήμα 1.1. Η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης για την παραγωγή μεθανίου και διοξειδίου του άνθρακα από οργανική ύλη.

Στον πίνακα 1.2 παρατίθενται οι κυριότερες αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την αναερόβια χώνευση της γλυκόζης [Van Anandel & Breure, 1984]. Η οξείδωση των προϊόντων της οξεογένεσης (προπιονικό οξύ, βουτυρικό οξύ, αιθανόλη) προς οξικό οξύ και υδρογόνο είναι θερμοδυναμικά μη επιτρεπτή, εκτός εάν η μερική πίεση του υδρογόνου διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα. Η θερμοδυναμική εφικτότητα της οξείδωσης ορισμένων οργανικών ενώσεων ως συνάρτηση της μερικής πίεσης του υδρογόνου απεικονίζεται στο σχήμα 1.3 [Harper & Pohland, 1986]. Είναι φανερό ότι, η οξείδωση του προπιονικού οξέος προς οξικό οξύ και υδρογόνο είναι εφικτή μόνο όταν η μερική πίεση του υδρογόνου είναι μικρότερη από 10^{-4} atm (1), ενώ η οξείδωση του βουτυρικού οξέος προς οξικό οξύ και υδρογόνο λαμβάνει χώρα μόνο όταν η μερική πίεση του υδρογόνου είναι μικρότερη από 10^{-3} atm (2). Η οξείδωση της αιθανόλης και του γαλακτικού οξέος προς οξικό οξύ και υδρογόνο είναι αδύνατη όταν η μερική πίεση του υδρογόνου είναι σχεδόν 1 atm (3 και 4 αντίστοιχα).

Ωστόσο, σε έναν αναερόβιο βιοαντιδραστήρα παραγωγής βιομεθανίου, η μερική πίεση του υδρογόνου διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα, λόγω της δράσης των μεθανογόνων βακτηρίων που είναι χρήστες υδρογόνου, με αποτέλεσμα να είναι θερμοδυναμικά εφικτές οι αντιδράσεις οξείδωσης των προϊόντων της οξεογένεσης. Η σχέση μεταξύ των μικροοργανισμών που αποδομούν τα πτητικά λιπαρά οξέα και βακτήρια που παράγουν μεθάνιο από υδρογόνο χαρακτηρίζεται ως ‘συντροφική’ και το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως η μεταξύ μικροβιακών ειδών μεταφορά υδρογόνου (interspecies hydrogen transfer).

Πίνακας 1.2. Σημαντικότερες αντιδράσεις κατά την αναερόβια χώνευση της γλυκόζης.

Αντιδράσεις	ΔG° (kJ/mol)
<i>Οξεογένεση</i>	
$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$	-206
$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2$	-255
$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3COOH + CH_3CH_2COOH + CO_2 + H_2$	-283
$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$	-226
<i>Οξικογένεση</i>	
$CH_3CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow CH_3COOH + CO_2 + 3H_2$	+76
$CH_3CH_2CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2H_2$	+48
$CH_3CH_2OH + H_2O \rightarrow CH_3COOH + 2H_2$	+9
<i>Μεθανογένεση</i>	
$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$	-136
$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$	-31

1.3 Ανάσχεση της μεθανογένεσης με στόχο την παραγωγή υδρογόνου

Η βιολογική παραγωγή υδρογόνου, μέσω της αναερόβιας επεξεργασίας βιοαποδομήσιμων οργανικών αποβλήτων, έχει πολλά κοινά σημεία με την παραγωγή μεθανίου, καθώς το υδρογόνου αποτελεί ενδιάμεσο προϊόν της αναερόβιας χώνευσης, αφού παράγεται κατά το στάδιο της οξεογένεσης (Σχήμα 1.1). Για αυτό, έχει προταθεί και αναπτυχθεί με επιτυχία η αναερόβια επεξεργασία δυο σταδίων σε σειρά, όπου η οξεογένεση και η μεθανογένεση λαμβάνουν χώρα ξεχωριστά για την ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και μεθανίου, αντίστοιχα [Benermann et. al., 2004;].

Τα ζυμωτικά βακτήρια που έχουν την ικανότητα να παράγουν υδρογόνο, μπορεί να είναι αυστηρά αναερόβια (Clostridia, Methanobacteria κ.α.), προαιρετικά αναερόβια (Enterobacteria κ.α.) ακόμα και αερόβια βακτήρια (Alcaligenes, Bacillus κ.α.) υπό ανοξικές συνθήκες. [Nandi & Sengupta, 1998].

Συχνά, μικτές καλλιέργειες αντί καθαρών καλλιιεργειών χρησιμοποιούνται για την αναερόβια επεξεργασία αποβλήτων με στόχο την παραγωγή υδρογόνου, καθώς μπορούν να μεταβολίσουν μια μεγάλη ποικιλία από υποστρώματα σε μη ασηπτικές συνθήκες, καθιστώντας τη λειτουργία του βιοαντιδραστήρα ευκολότερη σε επίπεδο χειρισμών και οικονομικότερη [Valdez – Vazquez et. al. , 2005]. Ωστόσο, το υδρογόνο που παράγεται από μικτές καλλιέργειες υπό αναερόβιες συνθήκες, συχνά καταναλώνονται από άλλα βακτήρια, που το χρησιμοποιούν για το μεταβολισμό τους. Κατά συνέπεια η μικτή αναερόβια καλλιέργεια πρέπει να υποστεί κατάλληλη επεξεργασία, ώστε να περιοριστεί στο ελάχιστο η μη επιθυμητή διεργασία της κατανάλωσης του παραγόμενου υδρογόνου από τα βακτήρια αυτά. Η επιτυχία των μεθόδων προεπεξεργασίας της μικτής αναερόβιας καλλιέργειας βασίζεται στην ικανότητα των βακτηρίων που παράγουν υδρογόνο να σχηματίζουν σπόρους (κυρίως Clostridia), όταν βρεθούν σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες (όπως έλλειψη θρεπτικών, αύξηση θερμοκρασίας, ξήρανση, ακτινοβολία κ.α.) σε αντίθεση με την πλειοψηφία των βακτηρίων που καταναλώνουν υδρογόνο (μεθανογόνα βακτήρια που είναι χρήστες

υδρογόνου, ομοοξικογόνα βακτήρια και βακτήρια που ανάγουν τα θειικά ιόντα). [Mizumo et. al., 2000]. Η θέρμανση, η όξινη ή βασική επεξεργασία, ο αερισμός, η χρήση χημικών και η χρήση ηλεκτρικού ρεύματος είναι οι πιο γνωστές και αποτελεσματικές μέθοδοι προεπεξεργασίας.

Η θερμική επεξεργασία μιας μικτής αναερόβιας καλλιέργειας αποτελεί την πιο συνηθισμένη μέθοδο προεπεξεργασίας [Lay et. al., 1999]. Η θερμοκρασία κυμαίνεται από 75°C μέχρι 121 °C και η διάρκεια επεξεργασίας από 15 min μέχρι 2 h. Συνήθως επιλέγεται θερμική επεξεργασία στους 100 °C για 15 min. Ωστόσο, η θερμική επεξεργασία δεν μπορεί να αναστείλει τη δράση όλων των βακτηρίων που καταναλώνουν υδρογόνο. Ο Oh και οι συνεργάτες του (2003) παρατήρησαν ότι, κάποια ομοοξικογόνα βακτήρια ίσως επιβιώνουν μετά από τη θερμική επεξεργασία αναερόβιας μικτής καλλιέργειας, καθώς διαπίστωσαν παραγωγή οξικού οξέος και μείωση παραγωγής υδρογόνου.

Στις περισσότερες περιπτώσεις, η αναερόβια μετατροπή της οργανικής ύλης προς μεθάνιο λαμβάνει χώρα για ουδέτερες τιμές του pH. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο ρυθμός παραγωγής μεθανίου μειώνεται απότομα ή και σταματά για pH κάτω από 6.3 ή πάνω από 7.8 [Chen et.al., 2002]. Συνεπώς, ρύθμιση του pH σε τιμές μικρότερες ή μεγαλύτερες του 7, παρεμποδίζει τη δράση των μεθανογόνων, αρκετοί από τους οποίους καταναλώνουν υδρογόνο, χωρίς όμως να περιορίζεται η δράση των ζυμωτικών μικροοργανισμών παραγωγής υδρογόνου.

Οι μεθανογόνοι μικροοργανισμοί είναι αυστηρά αναερόβιοι και ιδιαίτερα ευαίσθητοι όταν εκτίθενται σε αρκετές ουσίες. Επομένως, η δράση των μεθανογόνων μπορεί να ανασταλεί με απλό αερισμό ή με την προσθήκη τοξικών ουσιών. Οι χημικές ουσίες που συνήθως χρησιμοποιούνται για να αναστείλουν τη δράση των μεθανογόνων είναι το βρωμιούχο άλας του αιθανοσουλφονικού οξέος (2-Bromoethanesulfonate, BES) το ακετυλένιο και το χλωροφόρμιο [Cheng et. al., 2003]. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, έχει αναφερθεί ότι η χρήση BES σε συγκεντρώσεις μέχρι 25 mM [Sparling et. al.,

1997] ή 100 mM [Wang et. al.,2003a] είναι αποτελεσματική για την παραγωγή υδρογόνου, καθίσταται όμως οικονομικά ασύμφορη για λειτουργία σε μεγάλη κλίμακα.

Σύμφωνα με τον Roychowhury (2000) η επεξεργασία μικτής αναερόβιας καλλιέργειας με ηλεκτρικό ρεύμα χαμηλής τάσης (3-4.5 V) μπορεί να διαχωρίσει τα βακτήρια που παράγουν υδρογόνο από εκείνα που καταναλώνουν υδρογόνο, με αποτέλεσμα να ενισχύεται η απόδοση της διεργασίας παραγωγής υδρογόνου καθώς αποφεύγεται η παραγωγή μεθανίου.

Τέλος η δράση των μεθανογόνων βακτηρίων μπορεί να ανασταλεί όταν ο χρόνος παραμονής των στερεών (STR), σε έναν αναερόβιο αντιδραστήρα παραγωγής υδρογόνου συνεχής λειτουργίας (CSTR), είναι μικρότερος (8-12 h για απλά υποστρώματα) από τον ελάχιστο χρόνο που απαιτείται για την ανάπτυξη των μεθανογόνων βακτηρίων, καθώς τα ζυμωτικά βακτήρια αναπτύσσονται πιο γρήγορα από τα μεθανογόνα βακτήρια [Hawkes et al. 2002;]. Χαρακτηριστικά, ο μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (μ_{max}) για τα μεθανογόνα βακτήρια κυμαίνεται στις 0.3 d^{-1} , ενώ για τα οξεογόνα βακτήρια στις 1.5 d^{-1} .

1.4 Αναερόβιος μεταβολισμός οργανικής ύλης για παραγωγή υδρογόνου

Τα σημαντικότερα κριτήρια για το χαρακτηρισμό ενός τύπου οργανικής ύλης ως κατάλληλου για την παραγωγή υδρογόνου είναι η διαθεσιμότητα, το κόστος, η περιεκτικότητα κυρίως σε υδατάνθρακες και η βιοαποδομησιμότητα της [Kardan & Kargi, 2006]. Πολλοί τύποι οργανικών ενώσεων, από πολυμερή μέχρι μονομερή σάκχαρα, λίπη και πρωτεΐνες, μπορούν να αποτελέσουν υποστρώματα για την παραγωγή υδρογόνου [Classen et al., 1999]. Ωστόσο, πειράματα διαλείποντος έργου με υπόστρωμα υγρά ή στερεά απόβλητα κατέδειξαν ότι, η παραγωγή υδρογόνου είναι πιο αποδοτική όταν το απόβλητο είναι πλούσιο σε υδατάνθρακες σε αντίθεση με απόβλητα που είναι πλούσια σε πρωτεΐνες και λίπη [Noike & Mizuno, 2000;]. Τα απλά σάκχαρα (όπως γλυκόζη, σακχαρόζη, λακτόζη) παρόλο που είναι

εύκολα βιοδιασπάσιμες οργανικές ενώσεις αποτελούν ακριβές πρώτες ύλες. Επομένως, η παραγωγή υδρογόνου μέσω της αναερόβιας ζύμωσης καθίσταται ιδιαίτερα ελκυστική όταν, εκτός από μικτές καλλιέργειες, ως υποστρώματα χρησιμοποιούνται απόβλητα (υγρά ή στερεά), καθώς παράγεται ενέργεια χωρίς μεγάλο οικονομικό κόστος με σημαντικά οφέλη για το περιβάλλον (βιοτεχνολογική επεξεργασία αποβλήτων). Τα απόβλητα που χρησιμοποιούνται κυρίως ως υποστρώματα για την παραγωγή υδρογόνου συνοψίζονται στα ακόλουθα:

- *Γεωργικά απόβλητα, απόβλητα βιομηχανίας τροφίμων και αγροτοβιομηχανικά απόβλητα (στερεά ή υγρά) πλούσια σε άμυλο και κυτταρίνη.*

Πολλά γεωργικά απόβλητα, αγροτοβιομηχανικά απόβλητα (όπως απόβλητα ελαιοτριβείων, τυροκομείων κ.α.) απόβλητα βιομηχανίας τροφίμων περιέχουν πολυμερή υδατανθράκων, όπως άμυλο ή / και κυτταρίνη, η σύνθετη δομή των όποιων επηρεάζει δυσμενώς τη βιοδιαθεσιμότητα τους. Το άμυλο, που περιέχεται στα απόβλητα, μέσω της όξινης ή της ενζυμικής υδρόλυσης από εξωκυτταρικά ένζυμα (αμυλάσες), μετατρέπεται σε γλυκόζη, μαλτόζη και άλλα oligομερή και στη συνέχεια μέσω της αναερόβιας ζύμωσης προς υδρογόνο και πτητικά λιπαρά οξέα. Τα απόβλητα που ανήκουν στην κατηγορία των λιγνοκυτταρινούχων υλικών, απαιτούν περαιτέρω προεπεξεργασία, ώστε να είναι κατάλληλα για την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου.

- *Περίσσεια ιλύος από μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων*

Η περίσσεια ιλύος από μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, με υψηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες και πρωτεΐνες, έχει προταθεί από αρκετούς ερευνητές ως υπόστρωμα για την παραγωγή υδρογόνου, παρά τη χαμηλή απόδοση της, αφού πρώτα επεξεργαστεί κατάλληλα ώστε να

ανασταλεί η δράση των μικροοργανισμών που καταναλώνουν υδρογόνο [Wang et al., 2004]

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το υδρογόνο κατά την αναερόβια χώνευση της οργανικής ύλης παράγεται στο στάδιο της οξεογέννησης. Επομένως, για να θεωρηθεί επιτυχής η βιολογική παραγωγή υδρογόνου από αναερόβια μικτή καλλιέργεια, οι μικροοργανισμοί που καταναλώνουν υδρογόνο θα πρέπει να παρεμποδιστούν. Έχοντας εξασφαλίσει ότι η δράση των συγκεκριμένων μικροοργανισμών έχει ανασταλεί, η διεργασία της αναερόβιας χώνευσης για την παραγωγή υδρογόνου περιλαμβάνει τα ακόλουθα δυο στάδια

1. Ενζυμική υδρόλυση των οργανικών πολυμερών προς ενδιάμεσα οργανικά μονομερή ή ολιγομερή.
2. Ζύμωση των οργανικών ενδιάμεσων προς πτητικά λιπαρά οξέα, αλκοόλες κ.α. με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα.

1.4.1 Υδρόλυση στην αναερόβια χώνευση

Οι μικροοργανισμοί δεν μπορούν να μεταβολίσουν απευθείας τη σύνθετη διαλυτή ή αδιάλυτη οργανική ύλη, καθώς η κυτταρική μεμβράνη είναι αδιαπέραστη για τέτοιου είδους υλικά. Πρέπει να προηγηθεί υδρόλυση των σύνθετων οργανικών ενώσεων προς διαλυτά πολυμερή και στη συνέχεια προς διμερή ή μονομερή, τα οποία μπορούν πλέον να εισαχθούν στο κύτταρο με τη δράση ειδικών ενζύμων και να μεταβολιστούν. Η υδρόλυση λαμβάνει χώρα με τη δράση μιας ειδικής κατηγορίας ενζύμων (υδρολάσες), τα οποία δρουν είτε εξωκυτταρικά (όπως στην περίπτωση βιοπολυμερών) είτε ενδοκυτταρικά (όπως στην περίπτωση των μικρών διμερών).

Η οργανική ύλη των αποβλήτων έχει συνήθως τη μορφή πολύπλοκων ενώσεων (μακρομόρια) και μπορεί να διακριθεί σε υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λίπη. Τα ένζυμα με βάση την κατηγορία των ενώσεων που υδρολύουν μπορούν να ταξινομηθούν όπως φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί.

Πίνακας 1.3 Τα κυριότερα υδρολυτικά ένζυμα

Ένζυμο	Υπόστρωμα	Προϊόν υδρολύσεως
<i>Υδρολάσες υδατανθράκων</i> φρουκτοσιδάση α-γλυκοσιδάση β- γλυκοσιδάση β-γαλακτοσιδάση αμυλάσες κυτταρινάση	σακχαρόζη μαλτόζη κελλοβιόζη λακτόζη άμυλο κυτταρίνη	φρουκτόζη + γλυκόζη γλυκόζη γλυκόζη γαλακτόζη + γλυκόζη μαλτόζη κελλοβιόζη
<i>Υδρολάσες αζωτούχων ενώσεων</i> ενδοπεπτιδάσες εξωπεπτιδάσες απαμινάσες	μέσο πρωτεϊνών άκρα πρωτεϊνών αμινοξέα	πεπτίδια αμινοξέα NH ₃ + οργανικά οξέα
<i>Εστεράσες</i> λιπάσες	γλυκερίδια (λίπη)	γλυκερόλη + λιπαρά οξέα

α) Υδρόλυση υδατανθράκων

Οι υδατάνθρακες (πολυσακχαρίτες) έχουν γενικό τύπο $C_nH_{2n}O_n$ και περιλαμβάνουν ενώσεις που περιέχουν τουλάχιστον τρία άτομα άνθρακα. Οι υδατάνθρακες βιοσυντίθενται από τα φυτά μέσω της φωτοσύνθεσης, μιας περίπλοκης διαδικασίας κατά την οποία το ηλιακό φως προσφέρει την απαραίτητη ενέργεια για τη μετατροπή του CO₂ σε γλυκόζη. Στη συνέχεια, πολλά μόρια γλυκόζης συνδέονται με χημικούς δεσμούς, σχηματίζοντας μεγαλύτερα μόρια τα οποία αποθηκεύονται με τη μορφή κυτταρίνης ή αμύλου. Έτσι, οι υδατάνθρακες είναι κατά κάποιο τρόπο οι ενδιάμεσες χημικές ενώσεις, μέσω της βιοσύνθεσης των οποίων, η ηλιακή ενέργεια αποθηκεύεται και αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας όταν μεταβολίζεται από τους ζωντανούς οργανισμούς.

Οι πλέον διαδεδομένοι πολυσακχαρίτες που απαντώνται στα απόβλητα είναι η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη και τα άμυλο. Η κυτταρίνη, ένα γραμμικό

ομοπολυμερές, αποτελείται από μονομερή D- γλυκόζης, συνδεδεμένα με β-1,4- γλυκοζιτικούς δεσμούς. Η ημικυτταρίνη είναι ένα διακλαδισμένο συμπολυμερές, αποτελούμενο από πεντόζες (D- ξυλόζη, L- αραβινόζη), εξόζες (D- μαννόζη, D- γλυκόζη, D- γαλακτόζη) και ουρονικά οξέα.

β) Υδρόλυση πρωτεϊνών

Οι πρωτεΐνες αποτελούνται από αμινοξέα, τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με αμιδικούς (πεπτιδικούς) δεσμούς. Οι δεσμοί αυτοί αναπτύσσονται ανάμεσα στην αμινομάδα (-NH₂) του ενός αμινοξέος και καρβοξυλομάδα (-COOH) κάποιου άλλου αμινοξέος, σχηματίζοντας μια επιμήκη μακριά αλυσίδα. Για λόγους ταξινόμησης, αλυσίδες με λιγότερα από 50 αμινοξέα ονομάζονται συχνά πεπτίδια, ενώ ο όρος πρωτεΐνες χρησιμοποιείται για μεγαλύτερες αλυσίδες.

γ) Υδρόλυση λιπιδίων

Τα λιπίδια και ειδικότερα οι εστέρες της γλυκερόλης και των λιπαρών οξέων, υδρολύονται από τις λιπάσες, ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τη διάσπαση των εστερικών δεσμών. Το αποτέλεσμα της υδρόλυσης είναι η απελευθέρωση γλυκερόλης και ανώτερων λιπαρών οξέων, που δεν είναι απαραίτητο να είναι τα ίδια. Τα λιπίδια ταξινομούνται σε δυο γενικές κατηγορίες: σε αυτά που περιέχουν εστερομάδες και μπορούν να υδρολυθούν (όπως λίπη) και σε αυτά που δε περιέχουν εστερομάδες και δεν υδρολύονται.

1.4.2 Οξεογένεση στην αναερόβια χώνευση

Κατά το στάδιο της οξεογένεσης / ζύμωσης διαλυτό οργανικό υλικό βιοαποδομείται προς απλούστερες οργανικές ενώσεις, κυρίως προς πτητικά λιπαρά οξέα και αλκοόλες με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα. Στη συνέχεια, περιγράφεται η οξεογένεση από διάφορες οργανικές ενώσεις (όπως σάκχαρα, αμινοξέα, λιπαρά οξέα) με τους

υδατάνθρακες (σάκχαρα) να αποτελούν την κυριότερη πηγή άνθρακα για την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου.

1.4.2.1 Ζύμωση σακχάρων και προϊόντα

Κατά τη ζύμωση των σακχάρων παράγονται κυρίως πτητικά λιπαρά οξέα (οξικό οξύ, προπιονικό οξύ, βουτυρικό οξύ, κ.α.) γαλακτικό οξύ, μεθανικό οξύ, αιθανόλη, βουτανόλη, ακετόνη κ.α., με ταυτόχρονη παραγωγή υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα.

1.5 Παράγοντες που επηρεάζουν την αναερόβια παραγωγή υδρογόνου

1.5.1 Θρεπτικά συστατικά και παρεμποδιστές

Όπως όλες οι βιολογικές διεργασίες, έτσι και η αναερόβια παραγωγή υδρογόνου απαιτεί θρεπτικά συστατικά απαραίτητα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και τα μεταβολισμό της οργανικής ύλης. Τα θρεπτικά συστατικά που συνήθως απαιτούνται είναι άζωτο, φώσφορος και κάποια ιχνοστοιχεία.

Το άζωτο είναι το πιο απαραίτητο θρεπτικό συστατικό για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Σύμφωνα με αρκετές μελέτες, η βέλτιστη συγκέντρωση αζώτου κυμαίνεται από 0.1 έως 2 g N/L και ο λόγος C/N από 3.3 έως 130 [Li & Fang, 2007].

Σύμφωνα με ελάχιστες μελέτες έχει βρεθεί ότι, ο φώσφορος είναι απαραίτητος για την παραγωγή υδρογόνου τόσο ως θρεπτικό συστατικό όσο και για την ρυθμιστική του ικανότητα. Ο Hawkes και οι συνεργάτες του (2002) μελετώντας όλα τα δεδομένα της βιβλιογραφίας κατέληξαν ότι, ο βέλτιστος λόγος C/P για την παραγωγή υδρογόνου είναι ίσος με 130. Ανάλογο είναι και το συμπέρασμα που προκύπτει από τη μελέτη των Lin και Lay (2004b), σύμφωνα με την οποία ο βέλτιστος λόγος C/P για την παραγωγή υδρογόνου από σακχαρόζη είναι ίσος με 120

Οι Lin και Lay (2005) μελέτησαν την επίδραση 11 ιχνοστοιχείων στην αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου και κατέληξαν ότι, το μαγνήσιο,

το νάτριο, ο ψευδάργυρος και ο σίδηρος είναι τα πιο απαραίτητα ιχνοστοιχεία, με το μαγνήσιο να είναι το πιο σημαντικό από τα τέσσερα.

Βαριά μέταλλα (όπως κάδμιο, χρώμιο, ψευδάργυρος, χαλκός, νικέλιο και μόλυβδος) που βρίσκονται κυρίως σε βιομηχανικά αλλά και αστικά απόβλητα είναι ιδιαίτερα παρεμποδιστικά για την αναερόβια χώνευση.

1.5.2 Λειτουργικές παράμετροι

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, κρίσιμες λειτουργικές παράμετροι για την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου είναι το pH, η θερμοκρασία και ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT) [Li & Fang, 2007].

Το pH είναι μια από τις βασικότερες λειτουργικές παραμέτρους καθώς μπορεί να επηρεάσει την ενεργότητα της υδρογένεσης (παρεμπόδιση για χαμηλές τιμές του pH), το δίκτυο μεταβολισμού υποστρωμάτων, ενώ μπορεί να συμβάλει στην καταστολή της δράσης των μεθανογόνων βακτηρίων που καταναλώνουν υδρογόνο.

Σύμφωνα με τις περισσότερες μελέτες, το βουτυρικό οξύ και το οξικό οξύ είναι τα κύρια προϊόντα κατά την αναερόβια βιολογική παραγωγή υδρογόνου, ενώ οι χαμηλές τιμές του pH φαίνεται να ευνοούν την παραγωγή βουτυρικού οξέος. Η παραγωγή προπιονικού οξέος αυξάνεται αισθητά για τιμές pH κοντά στο 7 ή και παραπάνω.

1.5.3 Μερική πίεση υδρογόνου και διοξειδίου του άνθρακα

Το σημαντικότερο μειονέκτημα της αναερόβιας βιολογικής παραγωγής υδρογόνου από οργανικά υποστρώματα είναι ότι η απόδοση της διεργασίας είναι αρκετά μικρότερη από τη μέγιστη θεωρητική απόδοση των 4 mol H₂/mol γλυκόζης, που επιτυγχάνεται όταν το οξικό οξύ είναι το μοναδικό τελικό προϊόν της οξεογένεσης. Αρκετές προσπάθειες έχουν γίνει για να βελτιωθούν οι λειτουργικές συνθήκες, ώστε να υπερκινηθούν οι θερμοδυναμικοί περιορισμοί της αντίδρασης παραγωγής οξικού οξέος από γλυκόζη.

Σύμφωνα με την αρχή Le Chatelier, η ισορροπία της αντίδρασης μετατοπίζεται προς τα δεξιά, όταν ένα από τα δυο ή και τα δυο αέρια προϊόντα (υδρογόνο και διοξείδιο του άνθρακα) απομακρυνθούν από το σύστημα. Είναι φανερό ότι όσο αυξάνεται η μερική πίεση υδρογόνου, η ισορροπία μετατοπίζεται προς τα αριστερά, με αποτέλεσμα να μειώνεται η παραγωγή υδρογόνου, ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται η παραγωγή πιο ανηγμένων προϊόντων, όπως γαλακτικό οξύ, αιθανόλη, βουτανόλη, ακετόνη κ.α. Επομένως, η μείωση της μερικής πίεσης του υδρογόνου ενισχύει την παραγωγή υδρογόνου.

1.5.4 Αξιοποίηση των προϊόντων της αναερόβιας παραγωγής υδρογόνου

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η απόδοση της αναερόβιας διεργασίας παραγωγής υδρογόνου κυμαίνεται από 1 έως 2 mol H₂/mol γλυκόζης (μικρότερη από τη μέγιστη θεωρητική απόδοση των 4 mol H₂/mol γλυκόζης), με αποτέλεσμα 80-90% του αρχικού οργανικού υλικού (ως COD) να παραμένει στο απόβλητο με τη μορφή πτητικών λιπαρών οξέων, αλκοολών κ.α. [Oh & Logan, 2005; Li & Fang, 2007].

Η ανάπτυξη ενός δεύτερου σταδίου επεξεργασίας που θα ακολουθεί την αναερόβια ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου είναι πλέον απαραίτητη όχι μόνο για την ανάκτηση επιπλέον ενέργειας αλλά και για την προστασία του περιβάλλοντος, εξαιτίας του υψηλού υπολειπόμενου οργανικού φορτίου.

1.6 Εκκίνηση (Start up) βιοαντιδραστήρων παραγωγής υδρογόνου

Είναι κατανοητό, ότι για μια σταθερή και οικονομική ζυμωτική διεργασία παραγωγής υδρογόνου είναι προτιμότερη η χρήση μικτών μικροβιακών καλλιιεργειών, οι οποίες δεν έχουν απαιτήσεις στη διατήρηση ασηπτικών συνθηκών λειτουργίας (Levin et al., 2004). Έπειτα, οι αποδόσεις σε υδρογόνο του είδους *Clostridium* είναι γενικά μεγαλύτερες συγκρινόμενες με τις αντίστοιχες αποδόσεις του προαιρετικά αερόβιου είδους *Enterobacter*. Το είδος *Enterobacter* παράγει περίπου 1 mol H₂ / mol γλυκόζης, ενώ το

είδος *Clostridium* παράγει περίπου 2 mol H₂/ mol γλυκόζης (Yokoi et al., 2001). Έτσι, είναι πλεονεκτικό, το είδος *Clostridium* να επιλέγεται στις μικτές μικροβιακές καλλιέργειες για την παραγωγή του υδρογόνου (Svensson et al., 1992).

Μια σημαντική δυσκολία που σχετίζεται με την παραγωγή του υδρογόνου από μικτές μικροβιακές καλλιέργειες σε συνεχή συστήματα, είναι η συνύπαρξη των υδρογονοπαραγωγών μικροοργανισμών, με τους μικροοργανισμούς που καταναλώνουν υδρογόνο, π.χ. τους μεθανογόνους ή τους ομοοξικογόνους. Αρκετές μελέτες αναφέρουν τη θερμική επεξεργασία της καλλιέργειας, η οποία χρησιμοποιήθηκε για τον εμβολιασμό των αντιδραστήρων, ως μέθοδο απενεργοποίησης ή καταστροφής τέτοιων μικροοργανισμών (Lin and Chang, 1999; Lay, 2000; Lay et al., 1999; Lay και Noike, 1999; Chen and Lin, 2001β; Sung et al., 2002; Okamoto et al., 2000). Κι' αυτό γιατί κάτω από υψηλές θερμοκρασίες μπορούν να «επιζήσουν» μόνο τα σπορογόνα είδη που παράγουν υδρογόνο, όπως είναι τα *clostridia* (Sung et al., 2002; Biebl, 1999; Talaro και Talaro, 1993). Συγκεκριμένα, τα *clostridia* επιλέγονται από φυσικά περιβάλλοντα, είτε μέσω παστερίωσης της ενεργού ιλύος για δύο συνεχόμενες περιόδους των 20 min στους 80°C (Cohen et al., 1985), είτε μέσω βρασμού αναερόβιας χωνευμένης λάσπης για 15min (Lay, 2000). Έχει αποδειχτεί ότι και οι δύο αυτές μέθοδοι θερμικής επεξεργασίας οδηγούν σε επιτυχή εκκίνηση (start – up) συνεχών βιοαντιδραστήρων παραγωγής υδρογόνου σε εργαστηριακή κλίμακα.

Παρά το γεγονός αυτό, η θερμική κατεργασία παρουσιάζει το μειονέκτημα ότι επιλέγονται οι - αυστηρά αναερόβιοι - σπορογόνοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι έχουν μεγάλη ευαισθησία στην παρουσία του οξυγόνου, το οποίο μπορεί να βρίσκεται είτε ως διαλελυμένο στην υγρή φάση, είτε να εισαχθεί κατά τη διάρκεια της ανάδευσης, στην αέρια φάση. Το γεγονός αυτό καθιστά το οξεογόνο σύστημα ιδιαίτερα ευαίσθητο ως προς την τοξικότητα που προκαλεί το οξυγόνο.

Οι Ueno et al. (1996) χρησιμοποίησαν καλλιέργεια από αερόβια πηγή (αερόβιο κομπόστ ενεργούς ιλύος) χωρίς παστερίωση και παρατήρησαν ότι η διεργασία παραγωγής υδρογόνου σταθεροποιήθηκε μετά από ένα μεγάλο χρονικό διάστημα, από την εκκίνηση του αντιδραστήρα. Ακόμα, οι Van Ginkel et al. (2001) για την παραγωγή υδρογόνου από σακχαρόζη, χρησιμοποίησαν ως μικροβιακή καλλιέργεια χώμα και κομπόστ από αγρούς (20cm βάθος) στους οποίους καλλιεργήθηκαν σόγια και πατάτες. Τα δείγματα υπέστησαν ξηρή θερμική κατεργασία (1h στους 104°C). Τα πειράματα απέδειξαν ότι παρουσιάστηκε μεγάλη περίοδος καθυστέρησης πριν την παραγωγή αερίου υδρογόνου, η οποία σχετίστηκε με τη βλάστηση σπόρων των σπορογόνων μικροοργανισμών. Η βλάστηση σπόρων γενικά, μπορεί να απαιτεί ειδικές περιβαλλοντικές συνθήκες και σημαντικό χρόνο. Σε μελέτες που διεξήχθησαν σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου με θερμικά επεξεργασμένα λάσπη, παρατηρήθηκε μια περίοδος καθυστέρησης 4 ημερών για την παραγωγή υδρογόνου από μικροκρυσταλλική κυτταρίνη (Lay, 2001) και 2 ημερών για το μίγμα αστικών στερεών αποβλήτων και βιολογικής λάσπης (Kalia, 1994).

Σύμφωνα με τους Cohen et al. (1985) μια εξάωρη διακοπή στην παροχή τροφοδοσίας στο ξεκίνημα του αντιδραστήρα, μπορούσε να προκαλέσει διαταραχή στη σπορογονία της μικτής καλλιέργειας των μικροοργανισμών, η οποία δεν ήταν αντιστρεπτή με την επανατροφοδότηση του συστήματος μετά από 6h.

Στην περίπτωση όπου στη μικροβιακή καλλιέργεια υπάρχουν μεθανογόνα βακτήρια, υπάρχουν δύο τρόποι, οι οποίοι μπορούν να εφαρμοστούν ταυτόχρονα ή ο καθένας ξεχωριστά, ώστε να περιοριστεί η δράση τους. Τα μεθανογόνα βακτήρια παρουσιάζουν αργούς ρυθμούς ανάπτυξης, με αποτέλεσμα να απαιτούνται μεγάλοι χρόνοι παραμονής μέσα στον αντιδραστήρα στον οποίο μεγαλώνουν π.χ. 10 d και επιπλέον η επιθυμητή περιοχή τιμών pH όπου οι μικροοργανισμοί αυτοί αναπτύσσονται είναι μεταξύ 6.5 και 7.6. Έτσι, η λειτουργία σε μικρούς υδραυλικούς χρόνους

παραμονής θα έχει ως αποτέλεσμα την έκπλυση των μεθανογόνων μικροοργανισμών, ενώ σε χαμηλές τιμές pH π.χ. μικρότερες από $\text{pH} = 6$ θα παρεμποδιστεί η δράση τους (Kim et al., 2004). Οι Chen et al. (2001) μελέτησαν την παραγωγή υδρογόνου, από σακχαρόζη, διατηρώντας σταθερό $\text{pH} = 6.7$ και ξεκινώντας από μαγιά χωρίς θερμική επεξεργασία. Ο αντιδραστήρας αρχικά λειτούργησε με ημι-συνεχή τρόπο, με σταδιακή μείωση του υδραυλικού χρόνου παραμονής από 20 σε 2.5 d. Στη συνέχεια, τέθηκε σε συνεχή λειτουργία, και λειτούργησε σε μόνιμη κατάσταση σε υδραυλικούς χρόνους παραμονής από 13-6 h. Στη διάρκεια της συνεχούς λειτουργίας βρέθηκε ότι ο βακτηριακός πληθυσμός αποτελούταν κυρίως από το οξεογόνο βακτήριο *Clostridium pasteurianum*, στο οποίο οφειλόταν κατά μεγάλο βαθμό, η παραγωγή του υδρογόνου. Οι Lin και Chang (1999) χρησιμοποίησαν και τις δύο μεθόδους ώστε να περιορίσουν την δράση των μεθανογόνων βακτηριδίων στην αναερόβια καλλιέργεια, προκειμένου να μελετήσουν την παραγωγή υδρογόνου από γλυκόζη.

1.7 Παράγοντες που επηρεάζουν τη ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου

Η παραγωγή του υδρογόνου από ζυμωτικά βακτήρια, εξαρτάται σημαντικά από τις λειτουργικές συνθήκες της διεργασίας όπως το pH, ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT), η συγκέντρωση του υποστρώματος, η παρουσία θρεπτικών, η ανάδευση, η μερική πίεση του παραγόμενου υδρογόνου, η θερμοκρασία αλλά και η απουσία ή πλήρης καταστολή μικροοργανισμών, που δρουν ως χρήστες υδρογόνου στην καλλιέργεια. Οι παράμετροι αυτές, επιδρούν στο μικροβιακό μεταβολικό ισοζύγιο και επακόλουθος στα τελικά προϊόντα της ζύμωσης. Παρακάτω θα αναλυθούν οι κυριότερες παράμετροι που επηρεάζουν τη διεργασία.

1.7.1 Το pH

Ο μεταβολισμός των μικτών οξεογόνων μικροοργανισμών, εξαρτάται σημαντικά από την τιμή του pH της καλλιέργειας (Afschar et al., 1986), το

οποίο μάλιστα αποτελεί πολύ κρίσιμη παράμετρο για βιοδιεργασίες με κυρίαρχο είδος τα clostridia (Lay, 2000). Στην βιβλιογραφία αναφέρονται ως βέλτιστες, αρκετές περιοχές τιμών pH για τη ζύμωση των υδατανθράκων από μικτές μικροβιακές καλλιέργειες. Αρκετοί ερευνητές αναφέρουν ότι η βέλτιστη απόδοση σε υδρογόνο, λαμβάνει χώρα για τιμές pH μεταξύ 5 και 6. (Lay, 2000; Fang και Liu, 2002; Fan et al., 2004). Έτσι, οι Zoetemeijer et al. (1982β) παρατήρησαν το μεγαλύτερο ρυθμό παραγωγής υδρογόνου από γλυκόζη σε pH = 5.7 και HRT = 4h. Επιπλέον, αυτές οι τιμές του pH, επιλέγονται ως βέλτιστες και για την καταστολή των μεθανογόνων μικροοργανισμών (Fang και Liu, 2001; Sung et al., 2002, Van Ginkel et al., 2001).

Από την άλλη, αρκετοί ερευνητές αναφέρουν την περιοχή τιμών pH από 6.8 -8 ως βέλτιστη (Collet et al., 2004; Liu και Shen, 2004; Zhang et al., 2003; Kanai et al., 2005; Lay, 2001), ενώ με βάση τους Ren et al. (1995) η βέλτιστη περιοχή τιμών pH για τη ζύμωση της σακχαρόζης σε συνεχή αντιδραστήρα είναι μεταξύ 4 και 4.5, ενώ για τη ζύμωση της σακχαρόζης σε αντιδραστήρα διαλείποντος έργου η περιοχή κοντά στο pH = 9 (Lee et al., 1999).

Οι Chen et al. (2002) και οι Lee et al. (2002), αναφέρουν ότι εκτός από το pH της ζύμωσης, σημαντικό ρόλο παίζει και το αρχικό pH, πριν την επώαση. Όμως αρκετές μελέτες υποστηρίζουν ότι το τελικό pH κατά την αναερόβια παραγωγή του υδρογόνου είναι κοντά στο 4.0 - 4.8, ανεξαρτήτως της αρχικής τιμής του pH (Yokoi et al., 2001; Lin και Shen, 2004; Zhang et al., 2003; Liu et al., 2003; Lay, 2001; Morimoto et al., 2004). Η μείωση του pH, εξαιτίας της παραγωγής των οργανικών οξέων, μειώνει τη ρυθμιστική ικανότητα του μέσου, με αποτέλεσμα χαμηλές τελικές τιμές pH (Khanal et al., 2004).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το γένος clostridium παράγει υδρογόνο χρησιμοποιώντας την οξειδωαναγωγική δράση της φερρεδοξίνης και τη δράση του ενζύμου της υδρογονάσης. Η δράση όμως της υδρογονάσης,

παρεμποδίζεται από τις χαμηλές τιμές του pH (Dabrock et al., 1992; Holt et al., 1988; Afschar et al., 1986). Επιπρόσθετα, το pH επιδρά και στο μεταβολικό δίκτυο της μικροβιακής καλλιέργειας, οδηγώντας στην παραγωγή διαφορετικού τύπου οργανικών οξέων, ανάλογα με τις συνθήκες. Έχει αναφερθεί ότι περισσότερο βουτυρικό οξύ παράγεται σε pH= 4 - 6 (Kardan και Kargi, 2006), ενώ ίσες ποσότητες οξικού και βουτυρικού οξέος παράγονται σε pH= 6.5 -7 (Fang και Liu, 2002). Η παραγωγή της αιθανόλης από την άλλη, εξαρτάται σημαντικά από τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Collet et al., 2004; Oh et al., 2003; Zhang et al., 2003; Ueno et al., 2001; Yu et al., 2002).

Από όλα όσα αναφέρθηκαν είναι φανερό ότι η ρύθμιση της τιμής του pH σε μια βέλτιστη τιμή όπου ευνοείται η παραγωγή του υδρογόνου, είναι ιδιαίτερα σημαντική για τη ζυμωτική διεργασία. Στην αντίθετη περίπτωση όπου το pH δεν διατηρείται στα επιθυμητά επίπεδα, μπορεί να παρεμποδιστεί η παραγωγή του υδρογόνου ή να προκληθεί αλλαγή του κυρίαρχου μικροβιακού πληθυσμού, η οποία οδηγεί στην παρεμπόδιση αυτή (Khanal et al., 2004).

1.7.2 Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT)

Σημαντική παράμετρος για τη ζύμωση των υδατανθράκων σε ένα σύστημα συνεχούς ροής, αποτελεί και η ρύθμιση του υδραυλικού χρόνου παραμονής, ώστε να επιτευχθεί βέλτιστη παραγωγή βιοϋδρογόνου (Brosseau και Zajic, 1982; Wang et al., 1979). Οι Fan et al. (2006) μελέτησαν την παραγωγή του υδρογόνου από απόβλητα ζυθοποιίας, χρησιμοποιώντας μικτή καλλιέργεια μικροοργανισμών, σε πέντε υδραυλικούς χρόνους παραμονής (HRT= 48, 24, 18, 12 και 8h). Η μέγιστη παραγωγικότητα σε υδρογόνο ελήφθη σε HRT = 18 h και ήταν ίση με 43 ml H₂/ g XAO_{προσθηθέν} ή 3.1 L H₂ / L αντιδραστήρα / d. Οι Lin και Chang (1999) πραγματοποίησαν πειράματα για την παραγωγή του υδρογόνου από γλυκόζη, χρησιμοποιώντας μικτή μικροβιακή καλλιέργεια σε χρόνους παραμονής 48, 36, 24, 12, και 6h και

παρατήρησαν ότι σε $HRT = 6h$ επιτεύχθηκε η μεγαλύτερη στοιχειομετρική απόδοση σε υδρογόνο ($1.7 \text{ mol H}_2/ \text{mol γλυκόζης}$). Η παραγωγή του υδρογόνου από αερόβια κομποστοποιημένη λάσπη, από απόβλητα βιομηχανίας ζάχαρης, μελετήθηκε σε συνεχές σύστημα, σε υδραυλικούς χρόνους παραμονής 3, 2, 1 και 0.5 d (Ueno et al., 1996). Η μείωση του υδραυλικού χρόνου παραμονής ευνόησε την παραγωγή του υδρογόνου ($2.59 \text{ mol H}_2/ \text{mol γλυκόζης}$ σε $HRT = 0.5d$), αν και η κατανάλωση της γλυκόζης ήταν μεγαλύτερη σε $HRT = 3 \text{ d}$ (97% αποδόμηση της γλυκόζης). Από τα παραπάνω είναι φανερό ότι ο βέλτιστος χρόνος παραμονής διαφέρει σε κάθε διεργασία και εξαρτάται από το είδος της βακτηριακής καλλιέργειας, το υπόστρωμα και το pH.

1.7.3 Η συγκέντρωση του υποστρώματος και των θρεπτικών

Σημαντικό ρόλο στην ετεροτροφική διεργασία παραγωγής υδρογόνου, παίζει και η συγκέντρωση του χρησιμοποιούμενου υποστρώματος. Έτσι, η αύξηση της συγκέντρωσης του υποστρώματος μπορεί να προκαλέσει αλλαγή στα μεταβολικά μονοπάτια, κατά τη διάρκεια της ζύμωσης (Yu και Fang, 2001; Dabrock et al., 1992) Οι Van Ginkel et al. (2001) μελέτησαν την παραγωγή υδρογόνου από σακχαρόζη, κάτω από διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις, παρατηρώντας ότι η ικανότητα μετατροπής της σακχαρόζης, αυξανόταν σημαντικά, με μείωση της συγκέντρωσης του υποστρώματος. Επιπλέον, οι μεγαλύτερες αρχικές συγκεντρώσεις οδήγησαν σε υψηλότερες μερικές πιέσεις υδρογόνου, αλλά η μικρότερη ικανότητα μετατροπής οδήγησε στο συμπέρασμα ότι το υπόστρωμα μετατρεπόταν κυρίως προς αλκοόλες παρά προς οξέα και υδρογόνο. Ο Lay (2001) σε πειράματα με ημικρυσταλλική κυτταρίνη σε αντιδραστήρες διαλείποντος έργου, βρήκε ένα μέγιστο άνω όριο για τη συγκέντρωση του υποστρώματος ($25 \text{ g κυτταρίνης / L}$), πάνω από το οποίο ο ειδικός ρυθμός παραγωγής υδρογόνου, μειωνόταν.

Οι Chen et al. (2006) μελέτησαν την επίδραση, της συγκέντρωσης του υποστρώματος, στην ικανότητα παραγωγής υδρογόνου, τριών διαφορετικών

υποστρωμάτων, της σακχαρόζης, των αποβλήτων τροφίμων και του ξηρού – μη λιπαρού- γάλακτος. Τα πειράματα με την σακχαρόζη απέδειξαν ότι η απόδοση σε υδρογόνο παρουσίασε μέγιστη τιμή σε μια συγκεκριμένη συγκέντρωση υποστρώματος και η περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης, οδήγησε προς μικρότερες αποδόσεις. Η απόδοση σε υδρογόνο στην περίπτωση των αποβλήτων τροφίμων και του γάλακτος, μειώθηκε με αύξηση της συγκέντρωσης του υποστρώματος, γεγονός που δικαιολογείται από τη μικρότερη περιεκτικότητα των υποστρωμάτων αυτών σε υδατάνθρακες απ' ότι η σακχαρόζη.

Για τη βελτιστοποίηση της διεργασίας, μεγάλη προσοχή πρέπει να δοθεί και στην προσθήκη ανόργανων θρεπτικών συστατικών και ιχνοστοιχείων τα οποία απαιτούνται για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Ο φώσφορος και ο σίδηρος αποτελούν σημαντικά συστατικά που προάγουν την παραγωγή υδρογόνου από βακτήρια (Hawkes et al., 2002). Υποστηρίζοντας τη σπουδαιότητα του φωσφόρου ως θρεπτικού συστατικού, οι Dabrock et al. (1992) πραγματοποιώντας πειράματα με γλυκόζη, υποστήριξαν ότι σε συνθήκες περιορισμού του, ευνοείται η παραγωγή ανηγμένων μεταβολικών προϊόντων όπως βουτανόλη και αιθανόλη και όχι πτητικών λιπαρών οξέων και υδρογόνου. Ακόμα, φωσφορικά και ανθρακικά ιόντα, πολύ συχνά προστίθενται ως συστατικά ρυθμιστικών διαλυμάτων, για τη διατήρηση του pH της καλλιέργειας, στα επιθυμητά επίπεδα (Endo et al., 1982; Cha και Noike, 1997; Nakamura et al., 1993; Onodera et al., 1999). Οι Lin και Lay (2004β) πρότειναν την χρήση φωσφορικών αντί των ανθρακικών στα ρυθμιστικά διαλύματα διότι τα ανθρακικά σχετίζονται με το CO₂ στην αέρια φάση, όπου η αύξησή του οδηγεί σε μείωση της περιεκτικότητας της αέριας φάσης, σε υδρογόνο.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο σίδηρος αποτελεί συστατικό της υδρογονάσης και αναφέρεται ότι η έλλειψή του προκαλεί τη μείωση της δραστηριότητας του συγκεκριμένου ενζύμου (Junelles et al., 1988; Dabrock et al., 1992; Peguin και Soucaille, 1995). Σύμφωνα με τους Lee et al (2001), οι

οποίοι μελέτησαν την παραγωγή υδρογόνου από σακχαρόζη μέσω μικτών μικροβιακών πληθυσμών, οι χαμηλές συγκεντρώσεις σιδήρου ευνόησαν την παραγωγή βουτανόλης και αιθανόλης, ενώ μέγιστη απόδοση σε υδρογόνο παρατηρήθηκε όταν προστέθηκαν στο μέσο ανάπτυξης 800 mg FeCl₂/ L. Τέλος, κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, οι μικροοργανισμοί απαιτούν για το μεταβολισμό τους, την προσθήκη επαρκούς ποσότητας αζώτου. Οι Lin και Lay (2004α) παρατήρησαν τη μέγιστη παραγωγικότητα σε υδρογόνο, σε αναλογία C / N = 47, ενώ για πολύ μεγαλύτερους λόγους, η κατανομή των μεταβολικών προϊόντων άλλαξε και η παραγωγικότητα σε υδρογόνο μειώθηκε σημαντικά, εξαιτίας του περιορισμού του αζώτου.

1.7.4 Η μερική πίεση της συγκέντρωσης του υδρογόνου και η ανάδευση

Η συγκέντρωση του υδρογόνου στην υγρή φάση, αποτελεί παράγοντα κλειδί, για τη ζυμωτική διεργασία παραγωγής υδρογόνου. Η παραγωγή του υδρογόνου δεν ευνοείται θερμοδυναμικά, με αύξηση της μερικής πίεσης του υδρογόνου (Thauer, 1977). Κι' αυτό γιατί η παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων υδρογόνου, μπορεί να προκαλέσει παρεμπόδιση στη δράση του ενζύμου της υδρογονάσης (Kondratieva, 1983). Η μείωση της συγκέντρωσης του υδρογόνου στην υγρή φάση, μπορεί να οδηγήσει το βακτηριακό πληθυσμό σε μεταβολισμό του ακέτυλο-συνενζύμου A προς μονοπάτια, κατά τα οποία ευνοείται η παραγωγή υδρογόνου και ενέργειας, αυξάνοντας έτσι τη συνολική τελική απόδοση σε υδρογόνο.

Οι Van Andel et al. (1985) μειώνοντας τη μερική πίεση του υδρογόνου, παρατήρησαν μια αύξηση στην αναλογία οξικό / βουτυρικό, η οποία συνοδεύτηκε από αύξηση του παραγόμενου υδρογόνου. Οι Mizuno et al. (2000) διαβιβάζοντας αέριο N₂ στην αέρια φάση, απομάκρυναν το παραγόμενο υδρογόνο, προκαλώντας μείωση της συγκέντρωσης του διαλυμένου υδρογόνου στην υγρή φάση. Με τον τρόπο αυτό παρατήρησαν αύξηση στην απόδοση του υδρογόνου κατά 68% καθώς επίσης οι Tanisho et

al. (1998) διαβιβάζοντας αργό στην αέρια φάση, πέτυχαν αύξηση στο NADH, άρα και στο υδρογόνο. Και κατά την θερμοφιλή ετεροτροφική ζύμωση, η μερική πίεση του υδρογόνου στην αέρια φάση πρέπει να διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα (< 2 kPa), ειδάλλως προκαλείται μείωση στο ρυθμό ανάπτυξης (Kelly, 1988; Schaefer και Schoenheit 1991; Schroeder et al., 1994) και ενδέχεται αντί για οξικό οξύ να παραχθεί γαλακτικό οξύ (Janssen και Morgan, 1992) ή αλανίνη (Kengen και Stams, 1994), μειώνοντας έτσι τη συνολική απόδοση του υδρογόνου από τη γλυκόζη.

Απ' όλα αυτά είναι φανερό ότι για την επίτευξη μεγαλύτερων αποδόσεων, το υδρογόνο θα πρέπει να απομακρύνεται καθώς παράγεται. Μια ενδεχομένως χρήσιμη τεχνική απομάκρυνσης του παραγόμενου υδρογόνου από το αέριο μίγμα, προτάθηκε από τους Nielsen et al. (2001) οι οποίοι χρησιμοποίησαν αντιδραστήρα με μεμβράνη παλλαδίου - αργύρου, η οποία μεμβράνη είχε μεγάλη εκλεκτικότητα στην συγκράτηση του υδρογόνου και έτσι γινόταν διαχωρισμός του υδρογόνου από το παραγόμενο αέριο.

Η συγκέντρωση του διαλυμένου υδρογόνου σχετίζεται και με τις συνθήκες ανάδευσης. Ο Lay (2000) υποστήριξε ότι μια αύξηση στην ταχύτητα ανάδευσης ενός συνεχούς αντιδραστήρα, αναδεδόμενου με μαγνητικό αναδευτήρα (από 100 στις 700 στροφές / min) προκάλεσε σημαντική αύξηση στον ημερήσιο ρυθμό παραγωγής υδρογόνου, από άμυλο. Τα πειραματικά αποτελέσματα των Lamed et al. (1988) επιβεβαίωσαν το γεγονός ότι η ανάδευση της καλλιέργειας του *Clostridium thermocellum*, ενίσχυσε τη μεταφορά του υδρογόνου στην αέρια φάση, προκαλώντας τη μείωση της παρεμπόδισης του ενζύμου της υδρογονάσης η οποία είχε προκληθεί από την υψηλή συγκέντρωση του υδρογόνου, στην υγρή φάση.

1.7.5 Η θερμοκρασία

Άλλος ένας σημαντικός παράγοντας που επιδρά στη ζυμωτική παραγωγή του υδρογόνου, είναι η θερμοκρασία. Η αποδόμηση του υποστρώματος η παραγωγή του υδρογόνου, η κατανομή των προϊόντων και η

μικροβιακή ανάπτυξη, επηρεάζονται σημαντικά από τη θερμοκρασία. Επιπλέον, και ο βακτηριακός πληθυσμός σ' ένα ζυμωτικό υδρογονοπαραγωγό αντιδραστήρα, εξαρτάται από τον παράγοντα αυτό (Mu et al., 2005). Η παραγωγή του υδρογόνου έχει μελετηθεί στη μεσόφιλη περιοχή (Majihat et al., 1997; Lay et al., 1999; Nielsen et al., 2001; Ueno et al., 1996; Palazzi et al., 2000; Noike και Mizuno, 2000), στη θερμόφιλη περιοχή (Yu et al., 2002; Ueno et al., 1996; Van Niel et al., 2003) και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (Lin και Chang, 2004).

Στη θερμόφιλη περιοχή, οι ρυθμοί των αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα, είναι πιο γρήγοροι απ' ό,τι στις μεσόφιλες συνθήκες, και έτσι η θερμοφιλική ζύμωση των υδατανθράκων επιτρέπει μεγαλύτερες οργανικές φορτίσεις και μικρότερους υδραυλικούς χρόνους παραμονής (Ahn και Forster, 2002). Επιπλέον, η υδρογονάση, που είναι το ένζυμο «κλειδί» για την παραγωγή του υδρογόνου, παρουσιάζει βέλτιστη θερμοκρασία μεταξύ 50-70°C (Koesnandar et al., 1991), οδηγώντας σε μεγαλύτερες αποδόσεις (Adams, 1990). Στις υψηλές θερμοκρασίες, αφενός μειώνεται η συγκέντρωση του διαλυμένου υδρογόνου στην υγρή φάση (Hawkes et al., 2002) και αφετέρου ευνοείται η παραγωγή του υδρογόνου θερμοδυναμικά (Lee και Zinder, 1988β). Παρ'όλα αυτά, οι θερμόφιλες διεργασίες θεωρούνται λιγότερο σταθερές στις περιβαλλοντικές αλλαγές, και παρουσιάζουν μεγαλύτερες ενεργειακές απαιτήσεις (εξαιτίας των υψηλότερων θερμοκρασιών) από τις μεσόφιλες, γεγονός που καθιστά τη μεσοφιλική ζυμωτική παραγωγή υδρογόνου περισσότερο ελκυστική και ενεργειακά συμφέρουσα από την παραγωγή υδρογόνου στη θερμόφιλη περιοχή.

1.7.6 Οι μικροοργανισμοί χρήστες υδρογόνου και οι παρεμποδιστές

Η πλήρης απουσία ή η παρεμπόδιση της δράσης των μικροοργανισμών που καταναλώνουν υδρογόνο, είναι σημαντική για την επίτευξη μέγιστων ρυθμών παραγωγής υδρογόνου. Τέτοιοι μικροοργανισμοί μπορεί να είναι οι μεθανογόνοι (Sparling et al., 1997), οι ομοοξικογόνοι (Ueno et al., 1996), τα

βακτήρια γαλακτικού οξέος (Noike et al., 2002; Lin και Chen, 2005) και άλλοι παρεμποδιστές όπως τα βακτήρια που ανάγουν τα θειικά σε υδρόθειο (Bitton, 1994; Mizuno et., 1998; Nandi et al., 2001; Esposito et al., 2003).

Όπως έχει αναφερθεί, στην περίπτωση όπου στην καλλιέργεια υπάρχουν υδρογονοχρήστες μεθανογόνοι μικροοργανισμοί, η καταστολή τους επιτυγχάνεται λειτουργώντας σε χαμηλό pH και μικρούς υδραυλικούς χρόνους παραμονής. Με θερμική κατεργασία της μικροβιακής καλλιέργειας, στο ξεκίνημα της διεργασίας, η καλλιέργεια απαλλάσσεται από τα βακτήρια γαλακτικού οξέος (Noike et al, 2002) και τα μεθανογόνα βακτήρια (Lay, 2000). Στην περίπτωση, μικτής μικροβιακής καλλιέργειας, μπορούν να λάβουν χώρα και άλλες ανταγωνιστικές αντιδράσεις, όπου καταναλώνεται υδρογόνο. Μια τέτοια αντίδραση είναι η ομοοξικογένεση η οποία πραγματοποιείται και από ορισμένα clostridia:



Όταν στην καλλιέργεια υπάρχουν ομοοξικογόνοι μικροοργανισμοί, μειώνεται το υδρογόνο που σχηματίζεται από τους ενεργούς οξεογόνους μικροοργανισμούς, ενώ η απόδοση σε οξικό αυξάνεται (Ueno et al., 1996). Οι λειτουργικές συνθήκες καταστολής των μικροοργανισμών αυτών, δεν είναι πλήρως γνωστές μέχρι σήμερα (Hussy et al., 2003). Οι Rogers και Gottschalk (1993) αναφέρουν ότι η ομοοξικογένεση, δε μπορεί να συμβεί σε pH κάτω από 5, ενώ οι Heyndricks et al. (1986) υποστήριξαν ότι μπορεί να γίνει κυρίαρχη διεργασία, είτε σε μεγάλους χρόνους παραμονής, είτε λόγω της μείωσης του ρυθμού ανάπτυξης των οξεογόνων, υδρογονοπαραγωγών μικροοργανισμών. Αρκετοί ερευνητές συνηγορούν στο ότι οι ομοοξικογόνοι δρουν σε μεγάλους χρόνους παραμονής (Morinaga και Kawada, 1990; Fynn και Syafila, 1990; Lajoie et al., 1988; Schmidt και Cooney, 1986).

2. ΓΛΥΚΕΡΙΝΗ ΚΑΙ ΑΛΛΑ ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ

2.1 Γλυκερίνη

Η γλυκερίνη είναι μια τρισθενής αλκοόλη η οποία απαντάται στη φύση σε όλα τα ζωικά και φυτικά λίπη στη μορφή γλυκεριδίων. Όταν αυτά τα λίπη υποστούν μετεστεροποίηση με την προσθήκη αλκοόλης (συνήθως μεθανόλη) για τον σχηματισμό βιοντίζελ, η γλυκερίνη ανακτάται στην αρχική της μορφή ως παραπροϊόν της αντίδρασης.

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείτε παγκοσμίως μια αλματώδη αύξηση στην σύνθεση βιοντίζελ. Στην Ευρώπη για παράδειγμα, η ετήσια παραγωγή του συγκεκριμένου βιοκαυσίμου, από 1.065.000 τόνους το 2002 ανήλθε στους 3.184.000 τόνους το 2005 και στους 6.069.000 τόνους το 2006 (European Biodiesel Board, 2006). Αποτέλεσμα αυτής της αύξησης είναι να συσσωρεύονται σημαντικές ποσότητες γλυκερίνης που όπως αναφέρθηκε είναι το κύριο παραπροϊόν της παραγωγής βιοντίζελ. Υπολογίζεται ότι κάθε 9 kg βιοκαυσίμου που παράγεται δημιουργείται 1 kg γλυκερίνης (Dasari *et al.* 2005).

Η καθαρή γλυκερίνη έχει μεγάλο εύρος εφαρμογών στις βιομηχανίες τροφίμων, φαρμακευτικών, συνθετικών και καλλυντικών. Γι αυτό το λόγο η γλυκερίνη που παράγεται στις μονάδες σύνθεσης βιοντίζελ καθαρίζεται και διοχετεύεται στις διάφορες αυτές εφαρμογές. Ωστόσο, η αλματώδης αύξηση του παραγόμενου βιοντίζελ έχει σαν αποτέλεσμα την υπερεπάρκεια των ποσοτήτων γλυκερίνης. Συνέπεια αυτού του γεγονότος ήταν να πέσει η τιμή της από 0,43 \$ / kg το 2003 στα 0,22 \$ / kg το 2005 (Hartenbower, 2006). Η αναμενόμενη συνέχιση της πτώσης της τιμής της θα καθιστούν οικονομικά ασύμφορο τον καθαρισμό της ακατέργαστης μορφής της από τις μονάδες παραγωγής βιοντίζελ. Για το λόγω αυτό είναι απαραίτητο να βρεθούν άλλοι τρόποι αξιοποίησης του παραπροϊόντος αυτού.

Στόχος της πρότασης αυτής είναι να μελετήσει την δυνατότητα αξιοποίησης της γλυκερίνης για την παραγωγή υδρογόνου και μεθανίου. Ειδικότερα οι στόχοι της ερευνητικής αυτής δράσης είναι οι ακόλουθοι:

- Ποιοτική αξιολόγηση της παραγόμενης γλυκερίνης στις μονάδες που συνθέτουν βιοντίζελ στη Ελλάδα και η πιθανή συσχέτιση της με τις πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται και τη διαδικασία παραγωγής.
- Προσδιορισμός του δυναμικού παραγωγής υδρογόνου από γλυκερίνη ως μοναδικό υπόστρωμα ή σε συνδυασμό με άλλα οργανικά υποστρώματα
- Προσδιορισμός του δυναμικού παραγωγής βιοαερίου από γλυκερίνη ως μοναδικό υπόστρωμα ή σε συνδυασμό με άλλα οργανικά υποστρώματα
- Δυνατότητας αξιοποίησης της γλυκερίνης ως μοναδικό υπόστρωμα ή σε συνδυασμό με άλλα οργανικά υποστρώματα για την παραγωγή σε σειρά υδρογόνου και εν συνεχεία βιοαερίου.
- Ποιοτική αξιολόγηση του τελικού υπολείμματος μετά την επεξεργασία για κάθε περίπτωση.

Μέσα από την διαδικασία αυτή αναμένεται να προσδιοριστούν οι βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας των αντιδραστήρων που θα επεξεργάζονται την ακατέργαστη γλυκερίνη ή μίγμα αυτής, όπως και οι αναμενόμενες αποδόσεις σε βιο-υδρογόνο και μεθάνιο και θα εκτιμηθούν τα βασικά χαρακτηριστικά του τελικού υπολείμματος.

2.2 Υγρά απόβλητα ελαιουργείων

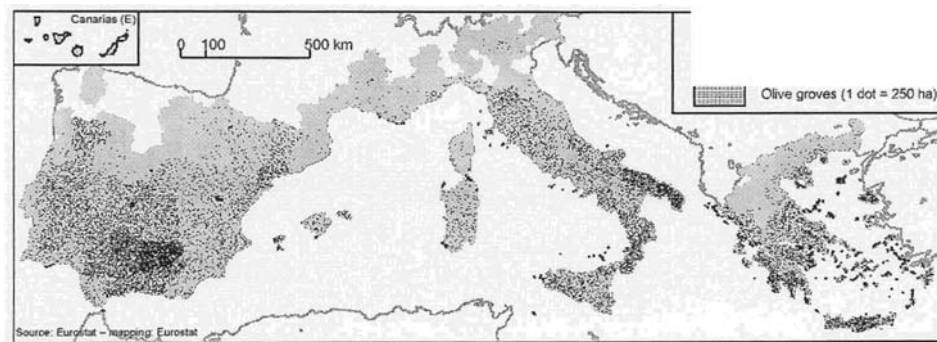
Ο κλάδος της επιτραπέζιας ελιάς και του ελαιόλαδου αποτελεί σημαντικό γεωργικό τομέα στην Ευρώπη. Είναι χαρακτηριστικό ότι ποσοστό άνω του 82% του ελαιόλαδου παράγεται από μικρές, οικογενειακής μορφής επιχειρήσεις στην ευρωπαϊκή περιοχή της Μεσογείου και αντιστοιχεί σε 2.282.650 τόνους ελαιόλαδου (περίοδος 2003/2004).

Περισσότεροι από 12.000.000 τόνοι ελιών καλλιεργούνται ετησίως στα κράτη-μέλη της ΕΕ από τις οποίες παράγονται πάνω από 2.000.000 τόνοι ελαιόλαδου σε περίπου 12.000 ελαιοτριβεία [8]. Η μεγάλη πλειοψηφία των καρπών (-92%) υποβάλλονται σε επεξεργασία για παραγωγή ελαιόλαδου, ενώ το 8% για επιτραπέζια χρήση.

Βάσει των ποσοτήτων που παράγονται και επεξεργάζονται, προκύπτει ότι η βιομηχανία της επιτραπέζιας ελιάς και του ελαιόλαδου είναι πρωταρχικής σημασίας για την οικονομία της ΕΕ. Αποτελεί κύριο τομέα εργασίας στην βιομηχανία τροφίμων της ΕΕ και προσφέρει εργασία σε 800.000 άτομα εντός της ΕΕ. Ποσοστό 90% περίπου των μεταποιητικών μονάδων του κλάδου ανήκει στην κατηγορία των μικρό-μεσαίων επιχειρήσεων.

Οι περιοχές στην Ευρώπη όπου καλλιεργούνται ελαιόδεντρα έχουν διπλασιαστεί από το 1980 μέχρι σήμερα και ανέρχονται σε 4.000.000 εκτάρια περίπου. Ο ελαιοκομικός κλάδος είναι ο δεύτερος σημαντικότερος αγρό-διατροφικός κλάδος στην ΕΕ, με μέσο ετήσιο ποσοστό αύξησης μεγαλύτερο από 4%. Το ποσοστό κατανάλωσης αυξήθηκε επίσης και αποτελεί σημαντικό μέρος της καθημερινής διατροφής όχι μόνο στις παραδοσιακές μεσογειακές χώρες, αλλά και στη βόρεια Ευρώπη. Η κατανάλωση αυξήθηκε τα 4 τελευταία έτη πάνω από 35% στην Ευρώπη και πάνω από 15% στις ΗΠΑ.

Ετησίως, τα απόβλητα της επεξεργασίας του ελαιόκαρπου ανέρχονται σε 30 εκατομμύρια m^3 [9],[10] εκ των οποίων το 60% είναι υγρά και το 40% στερεά απόβλητα. Η Ισπανία το 2002 παρήγαγε 4.303.700 τόνους ελαιόκαρπου, ο συνολικός όγκος αποβλήτων ανήλθε σε 3,5 εκατομμύρια τόνους (-80% της παραγωγής), από τους οποίους 2,1 εκατομμύρια τόνοι ήταν υγρά απόβλητα και 1,4 εκατομμύρια στερεά απόβλητα.



Εικ. 1: Κοινοτικοί ελαιώνες τα έτη 1999/2000 [5]

Η Ελλάδα συγκαταλέγεται στις μεγαλύτερες ελαιοπαραγωγές χώρες, παράγοντας το 15% της παγκόσμιας ελαιοπαραγωγής.

Με την καλλιέργεια της ελιάς απασχολείται μεγάλο μέρος του αγροτικού μας πληθυσμού και το παραγόμενο προϊόν έχει μεγάλη οικονομική και κοινωνική σημασία, αφού η συνολική του αξία αντιπροσωπεύει το 12% της συνολικής φυτικής παραγωγής της χώρας μας .

Από της συνολική παραγωγή ελιών, το μεγαλύτερο μέρος οδηγείται στα ελαιουργεία για την παραγωγή του ελαιόλαδου, ενώ ένα μικρό ποσοστό (περίπου 10%) ικανοποιεί τις ανάγκες της αγοράς σε βρώσιμες ελιές. Στην Ελλάδα λειτουργούν περίπου 3500 ελαιουργεία, το 80% των οποίων βρίσκεται στην Πελοπόννησο, στην Κρήτη και στα νησιά του Ιονίου και του Αιγαίου. Η λειτουργία τους είναι εποχιακή και ανάλογα με την περιοχή κυμαίνεται από τον Οκτώβριο μέχρι και τον Μάρτιο.

Κατά την παραγωγική διαδικασία του ελαιόλαδου στα ελαιουργεία, παράγονται μεγάλες ποσότητες αποβλήτων, ιδιαίτερα επιβαρημένων από άποψη οργανικού φορτίου, συμβάλλοντας έτσι στην οξύτητα του προβλήματος, που δημιουργούν τα υπόλοιπα αστικά, βιομηχανικά και λοιπά γεωργικά απόβλητα. Τα απόβλητα των ελαιουργείων, που προκύπτουν κατά την διαδικασία παραγωγής του ελαιόλαδου περιλαμβάνουν τα φυτικά υγρά του ελαιοκάρπου, αναμεμιγμένα με το νερό που χρησιμοποιείται στις διάφορες φάσεις κατεργασίας του.

Αν ανατρέξει κανείς σε ότι έχει γραφτεί μέχρι σήμερα, για τα χαρακτηριστικά των υγρών αποβλήτων ελαιουργείων, θα διαπιστώσει ότι οι τιμές που αναφέρονται ποικίλουν σημαντικά. Κάτι τέτοιο, όμως είναι φυσικά αναμενόμενο, αφού πρόκειται για ένα φυσικό προϊόν, που μπορεί να προκύπτει από διαφορετικές παραγωγικές διαδικασίες. Η σύσταση και τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των αποβλήτων αυτών, εξαρτώνται άμεσα από την καλλιεργούμενη ποικιλία, το στάδιο ωρίμανσης του ελαιοκάρπου, τις κλιματολογικές συνθήκες στην περιοχή καλλιέργειας, τον τύπο του ελαιουργείου (κλασσικό – φυγοκεντρικό), καθώς και το σημείο όπου γίνεται

η δειγματοληψία. Έτσι, λοιπόν, παρουσιάζονται μεγάλες διακυμάνσεις μεταξύ των διαφόρων ελαιοπαραγωγικών περιοχών, όπως και μεταξύ των ελαιοκομικών περιόδων. Ανατρέχοντας σε πολλές από τις ερευνητικές εργασίες, που έχουν πραγματοποιηθεί για τα απόβλητα των ελαιουργείων ανέκυψαν στοιχεία για τα χαρακτηριστικά τους (Πίνακα 2.1), τα οποία πράγματι παρουσιάζουν μεγάλο εύρος διακύμανσης.

Πίνακας 2.1 Χαρακτηριστικά αποβλήτου ελαιοτριβείου

Χαρακτηριστικά (mg/l)	Τιμή
Ολικά στερεά	14000 – 126000
Πτητικά οργανικά στερεά	12000 – 105000
Ολικά αιωρούμενα στερεά	400 – 24000
Χημικά απαιτούμενο οξυγόνο	25000 – 162000
Βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο	9200 – 100000
Ολικός φώσφορος	Ίχνη – 1400
Ολικό οργανικό άζωτο	9 - 3200

Τα υγρά απόβλητα των ελαιουργείων συγκαταλέγονται στα ιδιαίτερα τοξικά, από άποψη ρυπαντικού φορτίου, αγροτοβιομηχανικά απόβλητα. Δεδομένου, ότι για κάθε τόνο παραγόμενου ελαιόλαδου, παράγονται περίπου 6m³ αποβλήτων, έχει εκτιμηθεί ότι η μέση ετήσια παραγωγή αποβλήτων στην Ελλάδα ανέρχεται περίπου σε 1.500.000 m³. Δημιουργείται, λοιπόν, ένα σοβαρό πρόβλημα από την παραγωγή των αποβλήτων αυτών, μια και η επιτακτική ανάγκη για καθαρό περιβάλλον, κάνει επίκαιρη και επείγουσα την αναζήτηση λύσης, για την ασφαλή διάθεση τους.

Η πιο συνηθισμένη πρακτική, που ακολουθείται μέχρι σήμερα, είναι η απευθείας διάθεση των αποβλήτων, σε κοντινούς στα ελαιουργεία, υδάτινους αποδέκτες, όπως ποταμούς, θάλασσες και χείμαρρους. Στις περιπτώσεις αυτές, εκτός από την άμεση τοξικότητα των αποβλήτων, παρατηρούνται φαινόμενα έλλειψης οξυγόνου, το οποίο καταναλώνεται για την οξείδωση

των οργανικών ουσιών, από ομάδες μικροοργανισμών που αναπτύσσονται και επικρατούν στα σημεία απόρριψης των αποβλήτων αυτών. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, το ισοζύγιο οξυγόνου του υδάτινου περιβάλλοντος διαταράσσεται, προκαλώντας τοξικά φαινόμενα στην υδρόβια πανίδα.

Η μη ελεγχόμενη διάθεση των αποβλήτων των ελαιουργείων στο έδαφος, με ή χωρίς προσθήκη ασβέστη, αποτελεί επίσης μία άλλη εφαρμοζόμενη τακτική. Στην περίπτωση αυτή, παρουσιάζονται προβλήματα φυτοτοξικότητας στις αγροτικές καλλιέργειες, λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων αλάτων, της μεγάλης οξύτητας και της υψηλής συγκέντρωσης φαινολικών ουσιών, στις οποίες έχουν αποδοθεί φυτοτοξικές ιδιότητες. Ακόμα, η απευθείας διάθεση των αποβλήτων αυτών στο έδαφος, μειώνει σημαντικά τη διαπερατότητα του από το νερό, ενώ έχουν παρατηρηθεί αντιμικροβιακές δράσεις στους μικροβιακούς πληθυσμούς του εδάφους, από κάποιες ουσίες, που περιέχονται στα απόβλητα των ελαιουργείων.

Επίσης, είναι πιθανή η ρύπανση κοντινών επιφανειακών ή υπόγειων υδάτων, με αποτέλεσμα τη δημιουργία υγειονομικών προβλημάτων σε παραπλήσιες κατοικημένες περιοχές. Ακόμα η μεγάλη συγκέντρωση οργανικών και ανόργανων συστατικών φυτικής προέλευσης, που περιέχονται σε αυτά τα απόβλητα, μπορεί να δημιουργήσει παρενέργειες στους ζωντανούς οργανισμούς, οι οποίοι θα χρησιμοποιήσουν νερό, στο οποίο έχουν απορριφθεί τα απόβλητα.

Τέλος, τα υγρά απόβλητα προκαλούν ενοχλήσεις στους κατοίκους αστικών περιοχών, λόγω δυσάρεστων οσμών, συσσώρευση εντόμων και λοιπά.

2.3 Απόβλητα σφαγείων

Οι κανόνες υγιεινής στα σφαγεία επιβάλλουν τη χρήση μεγάλων ποσοτήτων νερού. Το νερό χρησιμοποιείται για το πότισμα και το πλύσιμο των ζώων πριν τη σφαγή, τον καθαρισμό του εξοπλισμού και των χώρων

εργασίας, καθώς και για το πλύσιμο των σφαγίων. Η διαδικασία του καθαρίσματος είναι η πιο απαιτητική σε κατανάλωση νερού. Η κατανάλωση νερού στα σφαγεία κυμαίνεται 1.5-10 m³/τόνο προϊόντος για χοίρους (180-450 lt ανά σφάγιο χοιρινού), 2.5-40 m³/τόνο προϊόντος για βοοειδή (800-1700 lt ανά σφάγιο βοοειδούς) και 6-30 m³/τόνο προϊόντος για πουλερικά (12-55 lt ανά πτηνό).

Ο όγκος και τα φορτία των αποβλήτων που παράγονται στα σφαγεία ποικίλουν ανάλογα με την πρώτη ύλη (είδος ζώου), την έκταση των εγκαταστάσεων που περιλαμβάνει η κάθε μονάδα (από απλά σφαγεία ζώων, μέχρι μικτής επεξεργασίας που περιλαμβάνουν σφαγεία, επεξεργασία κρέατος, συσκευασία, και κονσερβοποίηση τελικού προϊόντος), καθώς και τις μεθόδους καθαρισμού που ακολουθούνται. Σε κάθε περίπτωση όμως τα απόβλητα χαρακτηρίζονται από υψηλές συγκεντρώσεις ρύπων όπως:

- οργανικού άνθρακα
- αιωρούμενων στερεών
- λιπών και ελαίων
- αζώτου/αμμωνίας
- φωσφόρου
- αλάτων
- παθογόνων μικροοργανισμών

Τα υγρά απόβλητα των σφαγείων προέρχονται από τις εξής διεργασίες:

- Απώλειες αίματος κατά τη σφαγή και αποστράγγιση των ζώων / πουλερικών
- Πλύσιμο των σφαγείων.
- Πλύσιμο και καθαρισμός των εγκαταστάσεων.
- Πλύσιμο των φορτηγών μεταφοράς των ζώων / πουλερικών.
- Καθαρισμός του στάβλου αναμονής των ζώων / πουλερικών.

- Απόνερα ψύξης των συμπυκνωτών και των ψυκτικών μηχανών.

Ο όγκος των αποβλήτων σε μεγάλα σφαγεία έχει βρεθεί 7-9.m³/τόνο ζωντανού βάρους. Μέσες τιμές για TO BODs είναι συνήθως 1,25 kg/κεφαλή (0,5 - 2,0 kg/κεφαλή) για χοίρους 90 kg και 3,0 kg/κεφαλή (1,0 - 5,0 kg/κεφαλή) για βοοειδή 250 kg. Μέσες τιμές για το BODs είναι 1850-2000 mg/l, και για τα αιωρούμενα στερεά είναι περίπου 930 mg/l.

Για τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των αποβλήτων από ολοκληρωμένες μονάδες σφαγείων (περιλαμβάνεται και τμήμα χονδρικής κοπής και τεμαχισμού κρέατος) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον όγκο των αποβλήτων, το BODs και για τα αιωρούμενα στερεά 5,33 m³/τόνο βάρους ζωντανού προϊόντος, 6,0 kg/τόνο βάρους ζωντανού προϊόντος και 5,6 kg/τόνο βάρους ζωντανού προϊόντος αντίστοιχα.

Ο όγκος των αποβλήτων σε μεγάλα πτηνοσφαγεία έχει βρεθεί 22,50 l/πτηνό. Μέση τιμή για TO BODs είναι συνήθως 15,03 g/πτηνό και για τα αιωρούμενα στερεά είναι περίπου 15,40 g/πτηνό.

2.4 Βιολογικές μέθοδοι επεξεργασίας

Υπάρχουν δυο βασικά είδη βιολογικών διεργασιών : η αναερόβια και η αερόβια επεξεργασία .

Οι οργανικές ουσίες που περιέχονται στα υγρά απόβλητα και σε συνδυασμό με ορισμένα ανόργανα συστατικά , αποτελούν το θρεπτικό υπόστρωμα ανάπτυξης μικροοργανισμών . Οι μικροοργανισμοί αυτοί παίζουν καθοριστικό ρόλο στη φυσική διαδικασία καθαρισμού των λυμάτων αφού συντελούν στη βιοαποδόμηση των οργανικών ουσιών . Αποτελούν στην πράξη τους βιολογικούς “εργάτες”. Οι βιολογικές επεξεργασίες διακρίνονται, ανάλογα με τις συνθήκες που αναπτύσσονται, σε αερόβιες και αναερόβιες.

Η αερόβια χώνευση γίνεται παρουσία οξυγόνου, είναι πολύ ταχύτερη από την αναερόβια , με κύρια τελικά προϊόντα CO₂ και H₂O. Η επεξεργασία

αυτή εφαρμόζεται κυρίως στο σύστημα του χαλικοδυλιστηρίου, τη μέθοδο της δραστικής λάσπης, τις αερόβιες ή αεριζόμενες δεξαμενές καθώς και πολλές άλλες παρεμφερείς μονάδες.

Η αναερόβια χώνευση γίνεται υπό συνθήκες απουσίας οξυγόνου. Η κυριότερη εφαρμογή της διεργασίας αυτής γίνεται για τη χώνευση της λάσπης από τα συστήματα καθίζησης και για την επεξεργασία ορισμένων βιομηχανικών ή άλλων αποβλήτων υψηλού οργανικού φορτίου .

Η αναερόβια χώνευση συγκρινόμενη με την αερόβια παρουσιάζει τα παρακάτω πλεονεκτήματα :

1. Μηδενική απαίτηση σε οξυγόνο, η παροχή του οποίου ουσιαστικά αντιστοιχεί σε υψηλό κόστος, που καθιστά την επεξεργασία του αποβλήτου ασύμφορη.
2. Χαμηλή παραγωγή βιολογικής λάσπης με καλά χαρακτηριστικά καθίζησης (3-20 φορές μικρότερη παραγωγή απ' ότι στις αερόβιες διαδικασίες).
3. Παράγεται βιοαέριο (CH_4 και CO_2) το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο παρέχοντας θερμότητα στους χωνευτήρες ή παράγοντας ηλεκτρισμό.
4. Χαμηλή απαίτηση σε θρεπτικά
5. Η σταθεροποίηση των υγρών αποβλήτων μπορεί να επιτευχθεί σε υψηλούς ρυθμούς οργανικής φόρτισης.
6. Μπορούν να βιοαποδομηθούν ξενιοβιοτικά συστατικά όπως χλωριούχα, αλειφατικοί υδρογονάνθρακες (π.χ τριχλωροαιθυλένιο) και “δύστροπα ” φυσικά συστατικά.
7. Μεγάλη εφαρμοσιμότητα στην επεξεργασία ισχυρών αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων.
8. Χαμηλά λειτουργικά έξοδα και κόστος κεφαλαίου.

Αντίθετα, μερικά από τα μειονεκτήματα της αερόβιας χώνευσης, είναι τα ακόλουθα:

1. Είναι γενικά πιο αργή διαδικασία από την αερόβια χώνευση.

2. Είναι πιο ευαίσθητη σε τοξικές ουσίες.
3. Για την εκκίνηση της απαιτείται μεγάλο χρονικό διάστημα.
4. Ο μικρός ρυθμός ανάπτυξης των μεθανογόνων βακτηρίων απαιτεί μεγάλους χρόνους παραμονής
5. Τα τελικά προϊόντα της (CH_4 , H_2S , NH_3 κ.λ.π.) είναι δύσοσμα, τοξικά και εκρηκτικά, σε αντίθεση με της αερόβιας (H_2O , CO_2 κ.λ.π) που δεν προκαλούν προβλήματα.

Ο συνδυασμός των δύο παραπάνω διεργασιών χρησιμοποιείται τις περισσότερες φορές για την επίτευξη καλύτερων αποδόσεων στην επεξεργασία των αποβλήτων.

2.5 Αστικά οργανικά υπολείμματα

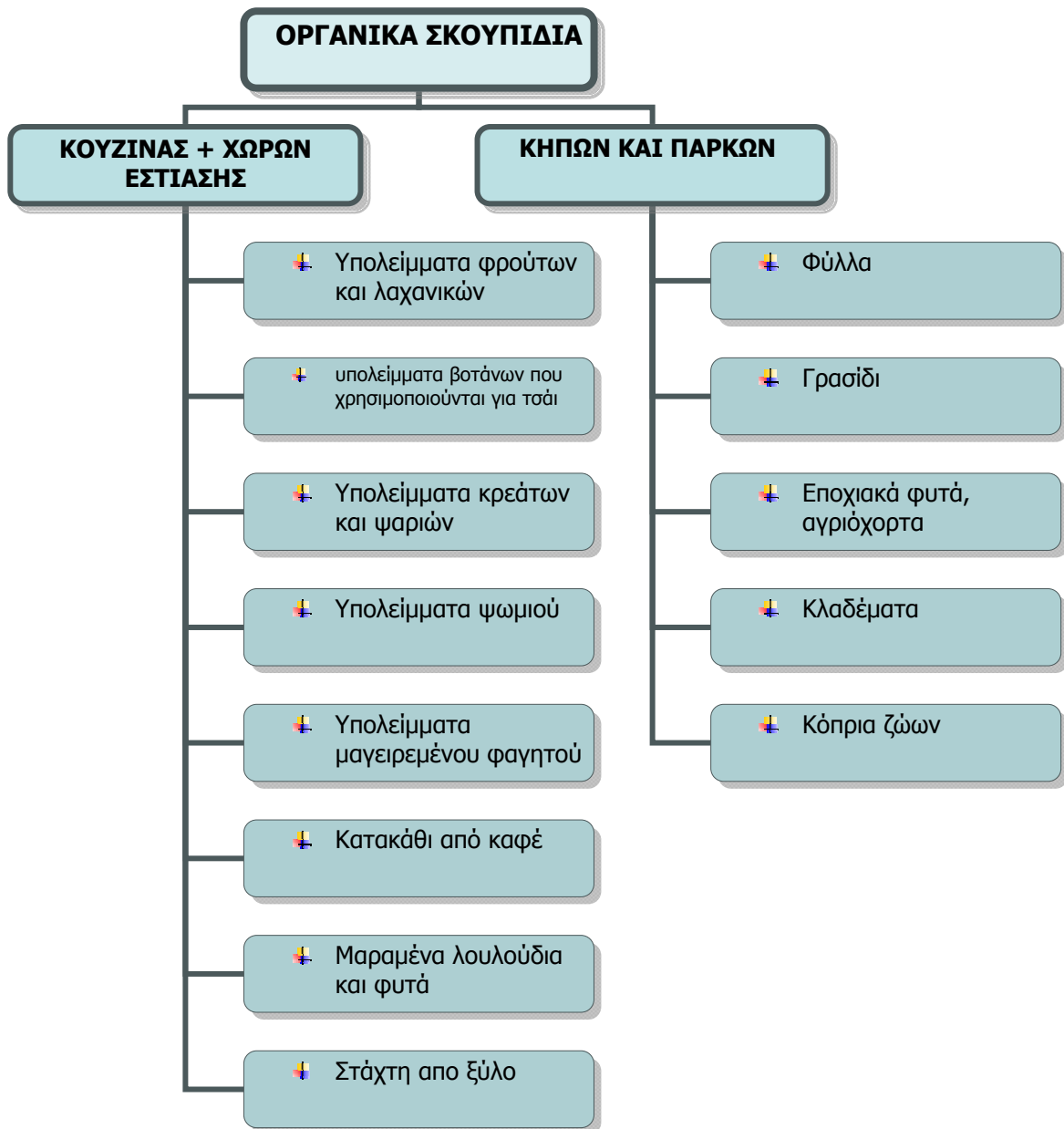
Από τον καιρό των πρώτων οργανωμένων κοινωνιών τα παραπροϊόντα των δραστηριοτήτων του ανθρώπου αποτέλεσαν σημαντικό πρόβλημα. Στη σημερινή εποχή που οι δραστηριότητες αυτές γίνονται ολοένα και πιο σύνθετες η παραγωγή αυτών των παραπροϊόντων, των απορριμμάτων δηλαδή, αυξάνεται συνεχώς μεγεθύνοντας και τα απορρέοντα προβλήματα.

Κάθε χρόνο από την ανθρώπινη δραστηριότητα δημιουργούνται εκατομμύρια τόνοι οικιακών απορριμμάτων που κυμαίνονται ανάλογα με τη χώρα, από 260 έως 725 kg το χρόνο για κάθε άτομο (άνδρα, γυναίκα ή παιδί). Η σύνθεση των απορριμμάτων διαφέρει επίσης από χώρα σε χώρα. Στον πίνακα 2.2 (Λέκκας & Ραζής, 1992) παρουσιάζεται η μέση σύνθεση απορριμμάτων αστικής προέλευσης σε διάφορες χώρες και στην Ελλάδα. Στον πίνακα αυτό φαίνεται το υψηλό ποσοστό ζυμώσιμων υλικών των ελληνικών απορριμμάτων σε σχέση με τα απορρίμματα άλλων χωρών και το αντίστοιχο χαμηλό ποσοστό χαρτιού.

Πίνακας 2.2: Σύνθεση αστικών απορριμμάτων σε διάφορες χώρες %
(Λέκκας & Ραζής, 1992)

Χώρα	Χαρτί	Οργανικά	Γυαλί	Πλαστικά	Μέταλλα
Γαλλία	30	25	12	6	5
Γερμανία	20,6	28,3	10,4	17,7	3,9
Ιταλία	22,3	42,1	7,1	7,2	3
ΗΠΑ	35,6	29	8,4	7,3	8,9
Ινδία	7	75	0,2	1	0,1
Αθήνα	19,5	59,8	2,6	7	3,8
Θεσσαλονίκη	17,7	51,7	4,1	7,2	5,9
Ρόδος	17	43	14	10	10
Ηράκλειο	17,2	52,5	1,4	14,3	2,8

Αστικά οργανικά απορρίμματα είναι τα ζωικής και κυρίως φυτικής προέλευσης «σκουπίδια», τα οποία παράγονται στην κουζίνα, στους κήπους, σε εμπορικά υποστατικά ή άλλους τύπους αστικών υποστατικών και σε δημόσιους χώρους, τα οποία είναι εξ' ολοκλήρου βιοαποικοδομήσιμα. Τα υπολείμματα φαγητών, κλαδέματα, φύλλα, χόρτα, γρασίδι είναι απορρίμματα τα οποία είναι σε θέση να υποστούν αναερόβια ή αερόβια αποσύνθεση.



Σχήμα 2.1 Κατηγορίες οργανικών υπολλειμμάτων

2.5.1 Κυριότερες μέθοδοι διάθεσης απορριμμάτων

- α) Η υγειονομική ταφή
- β) Λιπασματοποίηση
- γ) Αποτέφρωση
- δ) Αναερόβια επεξεργασία

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Εισαγωγή

Σε αυτό το κεφάλαιο γίνεται περιγραφή όλων των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν για την εκπόνηση της παρούσας πτυχιακής εργασίας.

3.2 Μέτρηση pH

Η μέτρηση του pH γινόταν με τη χρήση φορητού πεχαμέτρου HI 8224 της Hanna.

3.3 Προσδιορισμός χημικά απαιτούμενου οξυγόνου (ΧΑΟ)

Ως χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (ΧΑΟ) ορίζεται η ισοδύναμη ποσότητα οξυγόνου, που απαιτείται για την οξείδωση των συστατικών ενός δείγματος από ισχυρά οξειδωτικό μέσο. Ο προσδιορισμός του ΧΑΟ βασίζεται στο γεγονός ότι όλες οι οργανικές ενώσεις, με ελάχιστες εξαιρέσεις, μπορούν να οξειδωθούν από ισχυρά οξειδωτικά. Η οξείδωση του οργανικού υλικού ενός διαλύματος γίνεται από περίσσεια διχρωμικού καλίου ($K_2Cr_2O_7$) με θέρμανση και σε ισχυρά όξινες συνθήκες. Ως καταλύτης για την οξείδωση των αλειφατικών ενώσεων χρησιμοποιείται θειικός άργυρος ($AgSO_4$). Για την αποφυγή της δέσμευσης των ιόντων αργύρου από χλωριούχα, βρωμιούχα και ιωδιούχα ιόντα, τα οποία συνήθως υπάρχουν στα απόβλητα, γίνεται προσθήκη ιόντων υδραργύρου με τη μορφή θειικού υδραργύρου ($HgSO_4$), τα οποία συμπλοκοποιούνται με τα ιόντα αλογόνων, οδηγώντας τα σε ίζημα.

Ο προσδιορισμός του διαλυτού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου έγινε με τη μέθοδο της κλειστής επαναρροής που περιγράφεται στο Standard Methods, με φωτομέτρηση στα 600 nm των ιόντων Cr^{3+} που προκύπτουν από την οξείδωση του οργανικού υλικού, ενώ του ολικού χημικά απαιτούμενου οξυγόνου, με τη μέθοδο της ανοικτής επαναρροής με τιτλοδότηση των ιόντων Cr^{3+} με αραιό δ/μα H_2SO_4 (0.02N) παρουσία δείκτη.

3.4 Προσδιορισμός ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών

Ο προσδιορισμός των ολικών και πτητικών αιωρούμενων στερεών πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την αντίστοιχη μέθοδο, που περιγράφεται στο βιβλίο “ Standard Methods for the examination of water and wastewater ”. Ολικά αιωρούμενα στερεά (ΟΑΣ) χαρακτηρίζονται τα μη διηθούμενα στερεά. Για τον προσδιορισμό τους, γνωστή ποσότητα καλώς αναμεμειγμένου δείγματος διηθείται σε προζυγισμένο ηθμό ινών ύαλου. Το υλικό που κατακρατείται στον ηθμό ξηραίνεται μέχρι σταθερού βάρους σε φούρνο στους 103 –105°C. Η αύξηση του βάρους του ηθμού αντιπροσωπεύει τα ολικά αιωρούμενα στερεά.

Τα πτητικά αιωρούμενα στερεά αποτελούν το κλάσμα των ολικών αιωρούμενων στερεών, το οποίο εξαερώνεται στους 550°C. Για τον προσδιορισμό τους, ο ηθμός στον οποίο έχουν κατακρατηθεί τα ολικά αιωρούμενα στερεά πυρακτώνεται, μέχρι σταθερού βάρους σε πυραντήριο στους 550°C. Η μείωση του βάρους του ηθμού αντιστοιχεί στα πτητικά αιωρούμενα στερεά.

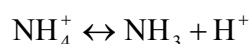
3.5 Περιγραφή της μεθόδου μέτρησης πτητικών λιπαρών οξέων και σύστασης βιοαερίου

Για την ανάλυση των πτητικών λιπαρών οξέων χρησιμοποιήθηκε θερμοκρασιακό πρόγραμμα στη στήλη που είχε θερμοκρασία 105°C και στη συνέχεια αυξανόταν σταδιακά, αρχικά με ρυθμό 15 °C/min για 3.67 min, και μετά με ρυθμό 20 °C/min για 6.75 min. Η θερμοκρασία στον ανιχνευτή ήταν 225°C.

Επίσης για τη μέτρηση της σύστασης του βιο-υδρογόνου χρησιμοποιήθηκε ισοθερμοκρασιακό πρόγραμμα στους 80°C, ενώ η θερμοκρασία στον ανιχνευτή ήταν 180°C.

3.6 Προσδιορισμός αμμωνίας και ολικού αζώτου κατά Kjeldahl

Ο προσδιορισμός της αμμωνίας έγινε με τη μέθοδο της απόσταξης όπως περιγράφεται στο Standard Methods. Στο προς ανάλυση δείγμα προστίθεται ρυθμιστικό διάλυμα τετραβορικού νατρίου ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) και υδροξειδίου του νατρίου και ρυθμίζεται το pH στο 9.5 με πυκνό διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου, με αποτέλεσμα να μεταφέρεται η χημική ισορροπία των ιόντων αμμωνίου προς τα δεξιά .



Στη συνέχεια ακολουθεί απόσταξη, μέχρι να συλλεχθεί όγκος αποστάγματος ίσος με το 70-80% του αρχικού όγκου του δείγματος. Το απόσταγμα συλλέγεται μέσα σε μία κωνική φιάλη που περιέχει διάλυμα βορικού οξέος (H_3BO_3) και δείκτη. Ο δείκτης είναι διάλυμα προπανόλης με τις χρωστικές ουσίες methyl blue και methyl red. Το διάλυμα αυτό κατακρατεί την αμμωνία που περιέχεται στο απόσταγμα, μετατρέποντας τη σε ιόντα αμμωνίου. Στο τέλος της απόσταξης, προσδιορίζεται η ισοδύναμη ποσότητα αμμωνίας στο διάλυμα με τιτλοδότηση του αποστάγματος με πρότυπο διάλυμα θειικού οξέος.

Η μέθοδος Kjeldahl προσδιορίζει το άζωτο που βρίσκεται στην οξειδωτική βαθμίδα -3 και έγινε σύμφωνα με τις οδηγίες του “Standard Methods”. Χρησιμοποιήθηκε συσκευή μικρό- Kjeldahl με φιάλες χωρητικότητας 50 ml δείγματος. Η βασική αρχή του προσδιορισμού είναι η εξής: παρουσία θειικού οξέος (H_2SO_4), θειικού καλίου (K_2SO_4) και θειικού υδραργύρου (HgSO_4) και κάτω από θερμοκρασία βρασμού του θειικού οξέος (340°C), το οργανικό άζωτο και η ελεύθερη αμμωνία μετατρέπονται σε αμμωνιακό άλας (NH_4HSO_4), αφού προηγηθεί οξείδωση (χώνευση) του οργανικού υλικού.

Μετά το τέλος της χώνευσης, προστίθεται αντιδραστήριο υδροξειδίου του νατρίου για την ανύψωση της τιμής του pH και αντιδραστήριο

θειοθειικού νατρίου ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) για τη διάσπαση των συμπλόκων του υδραργύρου με τα αμμωνιόντα, και ακολουθεί απόσταξη. Η αποσταχθείσα αμμωνία κατακρατείται από διάλυμα βορικού οξέος και δείκτη. Η ποσότητα της προσδιορίζεται εν συνεχεία με τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα θειικού οξέος 0.02 N .

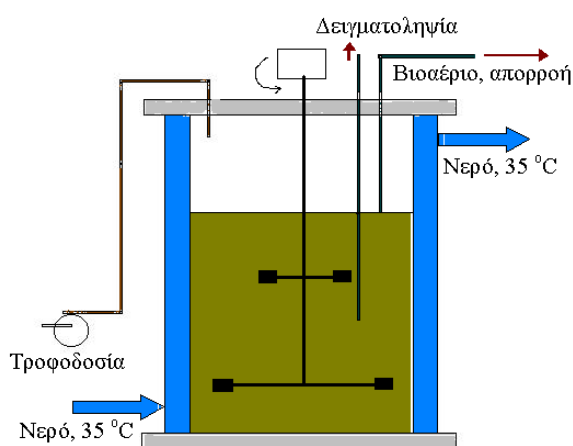
3.7 Προσδιορισμός ολικών και διαλυτών υδατανθράκων

Για την μέτρηση των ολικών και διαλυτών υδατανθράκων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος που προτείνει ο Jossefsson (1986) και η οποία περιλαμβάνει την μετατροπή των ουσιών αυτών σε ένα χρωματισμένο παράγωγο σακχάρων με προσθήκη L-tryptophan στο δείγμα παρουσία θειικού και βορικού οξέος. Στη συνέχεια πραγματοποιούνταν φωτομέτρηση του δείγματος στα 520nm.

4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ

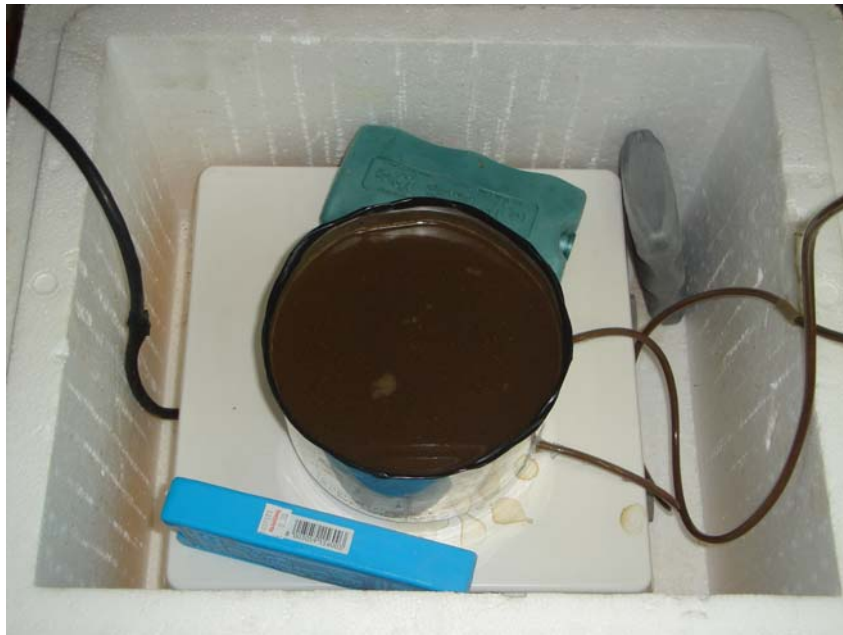
4.1 Πειραματική διάταξη

Ο συνολικός όγκος του αντιδραστήρα ήταν 1 lt , ενώ ο λειτουργικός όγκος ρυθμίστηκε, στα 0,5 lt. Όπως βλέπουμε από το σχήμα 1 ο αντιδραστήρας είχε διπλότοιχα τοιχώματα, από τα οποία περνούσε θερμαινόμενο νερό στους 35° C. Η απορροή του αντιδραστήρα πραγματοποιούνταν με φυσική ροή (χωρίς αντλία) λόγω της αύξησης της πίεσης στο εσωτερικό από την παραγωγή βιο-υδρογόνου.



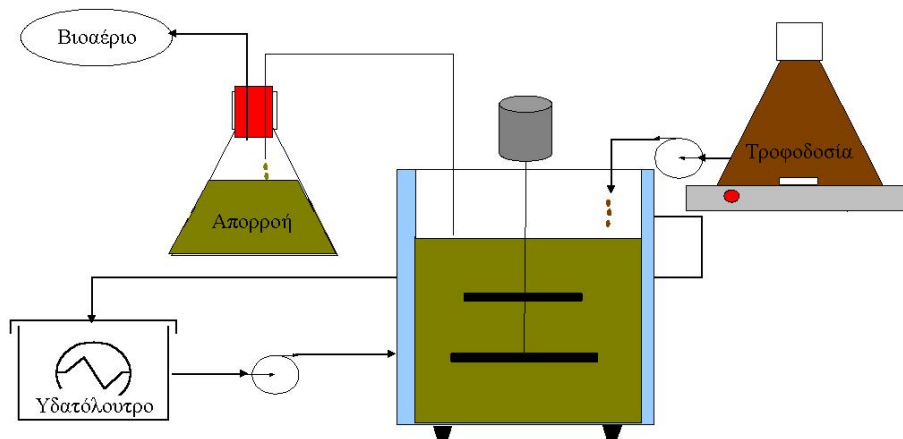
Σχήμα 1. Πειραματική διάταξη αναερόβιου αντιδραστήρα συνεχούς λειτουργίας (CSTR).

Η τροφοδοσία που αποτελείται από 80% απόβλητα σφαγείου και 20% υπολείμματα τριφασικού ελαιοτριβείου στο σύστημα διατηρούνταν σε κλειστή φιάλη σε θερμοκρασία $< 10^{\circ}$ C με τη βοήθεια θερμομονωτικού δοχείου και πάγου. Το σύστημα ήταν εφοδιασμένο με ρυθμιζόμενης ροής περισταλτικές αντλίες που τροφοδοτούσαν τον βιοαντιδραστήρα. Επίσης η απορροή συλλέγονταν σε κλειστή φιάλη, ενώ το παραγόμενο βιο-υδρογόνο κατέληγε σε ειδική σακούλα. Στο σχήμα 2 παρουσιάζεται συνολικά η διάταξη που χρησιμοποιήθηκε για τη λειτουργία του αναερόβιου CSTR.



Εικόνα 4.1 Πραγματική εικόνα τροφοδοσίας του αντιδραστήρα

Ο αντιδραστήρας ξεκίνησε με υδραυλικό χρόνο παραμονής 24 h. Η τροφοδοσία ήταν μείγμα αποβλήτων από ελαιοτριβεία και σφαγεία και περιείχε 30 g/l TSS, 20 g/l VSS και 23,8 g/l ολικό ΧΑΟ.



Σχήμα 2. Πειραματική διάταξη αναερόβιας επεξεργασίας αγροτικών υπολειμμάτων σε αντιδραστήρα συνεχούς λειτουργίας (CSTR).

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στον πίνακα 5.1 παρουσιάζονται συνοπτικά τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της τροφοδοσίας κατά την διάρκεια λειτουργίας των πειραμάτων, με μίγμα αποβλήτων ελαιοτριβείων και σφαγείων, με το οργανικό κλάσμα των αστικών στερεών απορριμμάτων (ΑΣΑ).

Πίνακας 5.1: Μέση τιμή και τυπικό σφάλμα της τροφοδοσίας του αντιδραστήρα κατά την διάρκεια λειτουργίας των πειραμάτων.

Παράμετρος	Οργανικό κλάσμα ΑΣΑ	Απόβλητα ελαιοτριβείου/σφαγείου (1:4)
pH	4.3 ± 0.5	5.4 ± 0.3
TS (g/L)	40.8 ± 14.4	24.3 ± 7.0
VS (g/L)	30.5 ± 10.9	20.1 ± 4.3
TN (mg/L)	480 ± 29	157 ± 26
Ολικοί Υδατάνθρακες (g/L)	15.8 ± 2.7	3.1 ± 1.2
Διαλυτοί Υδατάνθρακες (g/L)	8.0 ± 3.4	1.7 ± 0.6
Total COD (g/L)	27.6 ± 2.9	25.4 ± 6.7
Soluble COD (g/L)	10.5 ± 1.7	12.4 ± 2.8
TP (mg/L)	64 ± 12	44 ± 9
NH₄⁺-N (mg/L)	14.0 ± 2.5	39.6 ± 5.3

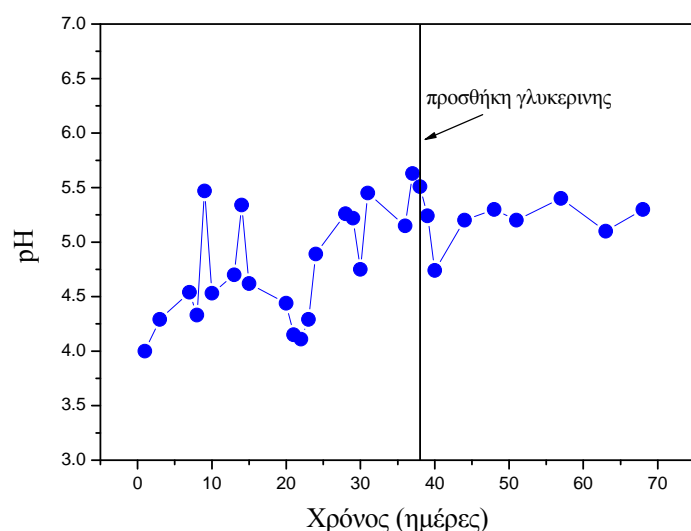
Τα απόβλητα του ελαιοτριβείου προήλθαν από το ελαιοτριβείο της ΕΑΣ Μονοφατσίου ενώ τα απόβλητα των σφαγείων από τα Δημοτικά σφαγεία Αγ. Βαρβάρας. Στη συνέχεια τα δυο απόβλητα αναμίχθηκαν σε αναλογία 1:4. Για την μελέτη του οργανικού κλάσματος των αστικών απορριμμάτων έγινε σύνθεση ενός μίγματος που περιείχε 40% φρούτα, 25% πατάτες, 25%

λαχανικά, 8% ψωμί και 2% χαρτί. Τέλος η ιλύς προήλθε από τον βιολογικό καθαρισμό λυμάτων του Δήμου Ηρακλείου.

Το δυναμικό παραγωγής υδρογόνου ενός υλικού εξαρτάται κατά πολύ από την περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το οργανικό κλάσμα των αστικών απορριμμάτων (ΟΚΑΣΑ) και το μίγμα των αποβλήτων ελαιοτριβείου και σφαγείου (ΑΕΣ) περιέχουν σημαντικές ποσότητες υδατανθράκων. Το μίγμα ελαιοτριβείου–σφαγείου έχει αναλογία C:N:P περίπου 100:0.6:0.2 και κατά συνέπεια ήταν απαραίτητο να προστεθεί ποσότητα αζώτου (0.25 g/l σε μορφή ουρίας).

5.1 Οργανικό κλάσμα αστικών απορριμμάτων

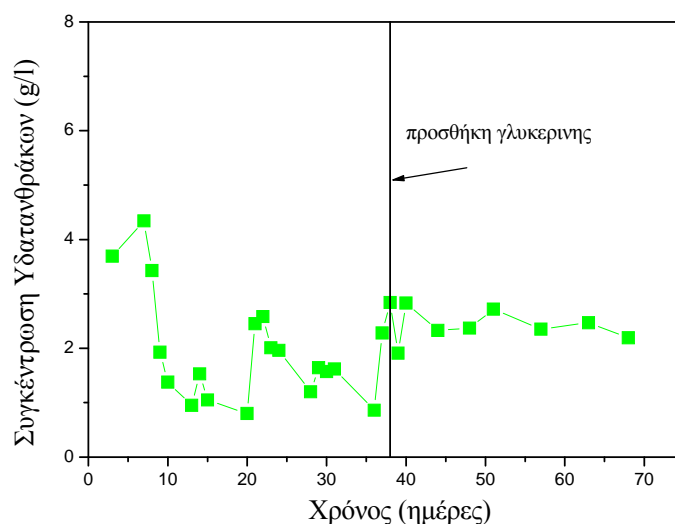
Η απόδοση του συστήματος κατά την επεξεργασία του οργανικού κλάσματος των αστικών απορριμμάτων πριν και μετά την προσθήκη της γλυκερίνης παρουσιάζεται στα διαγράμματα 5.1, 5.2 και 5.3. Το pH στον αντιδραστήρα ρυθμιζόταν στο 5.5 με την προσθήκη NaOH 1M καθημερινά ενώ οι καταγραμμένες τιμές ήταν από 4.1 έως 5.6 (Διάγραμμα 5.1).



Διάγραμμα 5.1. Μεταβολή του pH κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα για την παραγωγή βιοαερίου από αστικά οργανικά απορρίμματα και γλυκερίνη.

Οι Liu et al. (2006) βρήκαν ότι η βέλτιστη τιμή pH για την παραγωγή υδρογόνου από αστικά απορρίμματα ήταν από 5-5.5 και όταν το pH έπεφτε κάτω από το 5.0 παρατηρούσαν μειωμένους ρυθμούς παραγωγής υδρογόνου. Αυτό το φαινόμενο σχετίζεται με το τελικό προϊόν της αναερόβιας ζύμωσης. Όταν το οξικό οξύ είναι το τελικό προϊόν τα θεωρητικά γραμμομόρια υδρογόνου που παράγονται είναι διπλάσια από όταν το τελικό προϊόν είναι το βουτυρικό οξύ. Οι τιμές pH μεταξύ 3.9-4.5 ευνοούν την παραγωγή βουτυρικού οξέος (Kim et al., 2004).

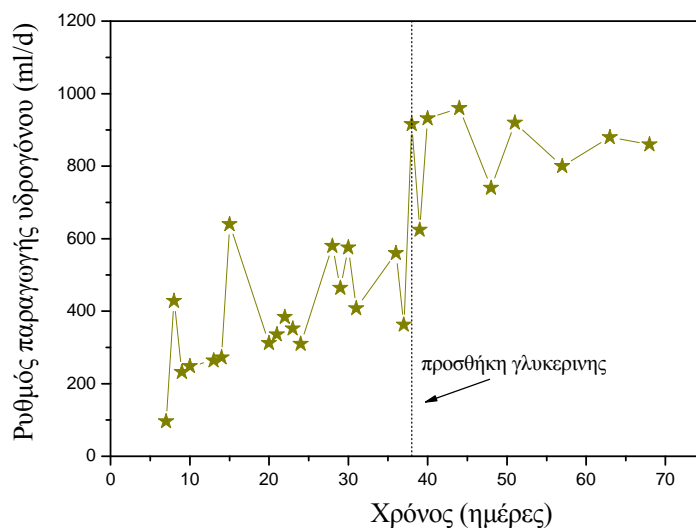
Η συγκέντρωση υδατανθράκων στον αντιδραστήρα ήταν 1.96 ± 1.01 g/l και 1.88 ± 0.45 g/l πριν και μετά την προσθήκη της γλυκερίνης αντίστοιχα (Διάγραμμα 5.2).



Διάγραμμα 5.2. Μεταβολή της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα για την παραγωγή υδρογόνου από οργανικά αστικά στερεά απορρίμματα και γλυκερίνη.

Η προσθήκη της γλυκερίνης είχε σημαντική επίδραση στον ρυθμό παραγωγής βιο-υδρογόνου στον αντιδραστήρα. Συγκεκριμένα ο ρυθμός παραγωγής στην πρώτη φάση (χωρίς γλυκερίνη) ήταν 396 ± 128 ml/d και μετά ήταν 848 ± 109 ml/d (Διάγραμμα 5.3.). Αυξήθηκε δηλαδή κατά 114% μετά την προσθήκη της

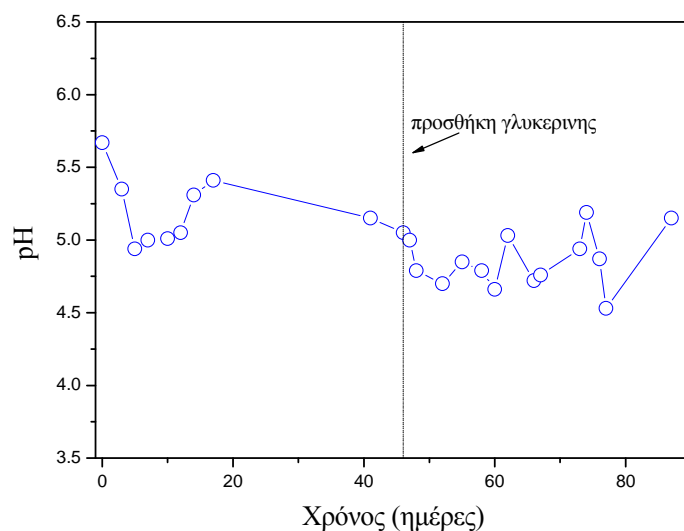
γλυκερίνης. Η απόδοση σε υδρογόνο του συστήματος ήταν 2,99 mmole ανά γραμμάριο γλυκερίνης που προστέθηκε.



Διάγραμμα 5.3. Μεταβολή του ρυθμού παραγωγής υδρογόνου κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα με οργανικά αστικά στερεά απορρίμματα και γλυκερίνη.

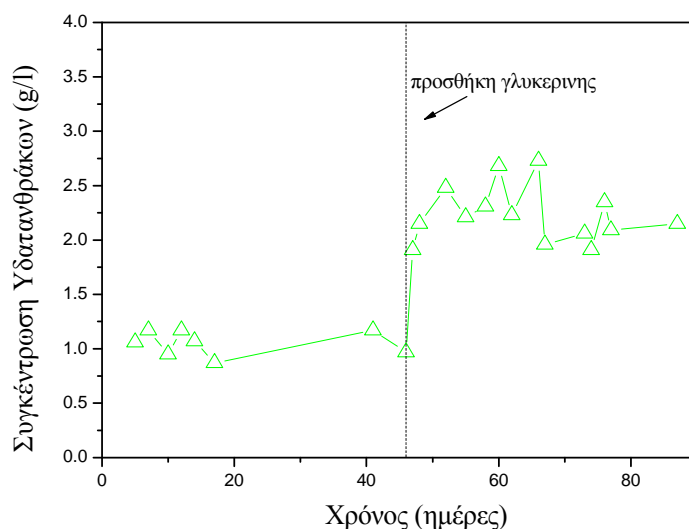
5.2 Απόβλητα ελαιοτριβείων και σφαγείων

Στο διάγραμμα 5.4 παρουσιάζεται η μεταβολή του pH κατά την διάρκεια λειτουργίας του συστήματος. Η τιμή του pH στον αντιδραστήρα ρυθμιζόταν στο 5.5 με την προσθήκη NaOH 1M καθημερινά ενώ οι καταγεγραμμένες τιμές ήταν από 4.5 έως 5.5.



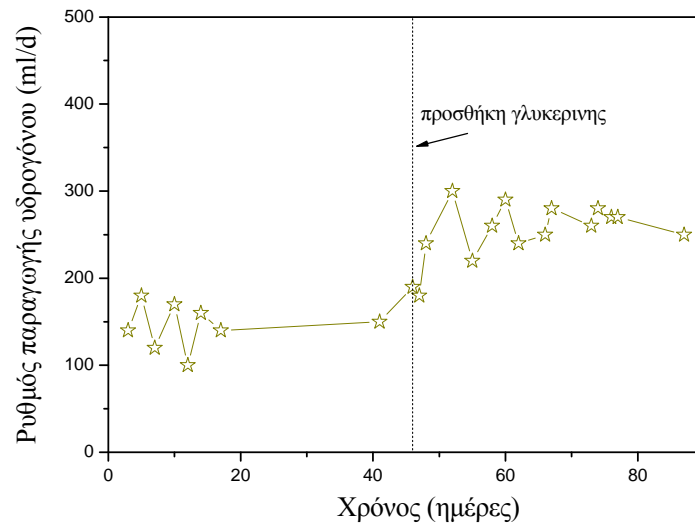
Διάγραμμα 5.4. Μεταβολή του pH κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα για την παραγωγή βιοαερίου από αγροτοβιομηχανικά απόβλητα και γλυκερίνη.

Η συγκέντρωση υδατανθράκων στον αντιδραστήρα ήταν περίπου στο ίδιο εύρος πριν και μετά την προσθήκη της γλυκερίνης (2.1 ± 0.3 mg/l).



Διάγραμμα 5.5. Μεταβολή της συγκέντρωσης των διαλυτών υδατανθράκων κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα για την παραγωγή υδρογόνου από αγροτοβιομηχανικά απόβλητα και γλυκερίνη.

Η μέση παραγωγή υδρογόνου πριν την προσθήκη της γλυκερίνης ήταν 150 ± 29 ml/d. Χρησιμοποιώντας τα παραπάνω αποτελέσματα και λαμβάνοντας υπόψη την συγκέντρωση υδατανθράκων στην τροφοδοσία υπολογίζεται ότι παράγονται 5.9 mmole H_2 ανά γραμμάριο υδατανθράκων που απομακρύνεται. Οι Koutrouli et al. (2006) μελετώντας την παραγωγή υδρογόνου από πούλπα διαφασικών ελαιοτριβείων βρήκε ότι παράγονται 4.5 mmole H_2 ανά γραμμάριο υδατανθράκων που απομακρύνεται. Η ελαφρά αυξημένη απόδοση σε υδρογόνο που βρέθηκε σε αυτή την εργασία πιθανόν να οφείλεται στην παρουσία και αποβλήτων σφαγείων στην τροφοδοσία. Τα απόβλητα σφαγείων παράγουν υδρογόνο κατά την αναερόβια χώνευση των λιπαρών οξέων (Mackie et al., 1991). Μετά την προσθήκη της γλυκερίνης η ημερήσια παραγωγή βιο-υδρογόνου στον αντιδραστήρα αυξήθηκε από 263 ± 21 ml/d, δηλαδή 113 ml/d περισσότερο από πριν. Υπολογίζεται ότι η απόδοση σε υδρογόνο της γλυκερίνης είναι 0.72 mmole H_2 ανά γραμμάριο γλυκερίνης. Επίσης είναι γνωστό ότι η ζύμωση της γλυκερίνης μπορεί να παράγει υδρογόνο (Yazdani and Gonzalez, 2007) ωστόσο σε αυτή την εργασία είναι η πρώτη φορά που αναφέρεται παραγωγή υδρογόνου από γλυκερίνη σε μικτές καλλιέργειες. Οι Ito et al. (2005) χρησιμοποιώντας ακινητοποιημένα βακτήρια *enterobacter aerogenes* σε ένα αντιδραστήρα παρήγαγαν 8.2 mmole H_2 ανά γραμμάριο γλυκερίνης. Το βακτήριο *Anerovibrio glycerini* βρέθηκε από τους Schauder και Schink (1989) ότι ζυμώνουν την γλυκερίνη σε προπιονικό οξύ και παράγουν υδρογόνο με απόδοση 1.5 mmole H_2 ανά γραμμάριο γλυκερίνης.



Διάγραμμα 5.6. Μεταβολή του ρυθμού παραγωγής υδρογόνου κατά την διάρκεια λειτουργίας του αντιδραστήρα με αγροτοβιομηχανικά απόβλητα και γλυκερίνη

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Γαβαλά Χ. 1998. Αερόβια συγχώνευση αγροτοβιομηχανικών αποβλήτων. Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστημίου Πατρών.
2. Λυμπεράτος Γ. 1995. Μηχανική υγρών αποβλήτων. Εκδόσεις Πανεπιστημίου Πατρών.
3. Τσώνης Σ. 1988 Επεξεργασία υγρών αποβλήτων ελαιοτριβίων. Διαδακτορική διατριβή, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Πανεπιστημίου Πατρών.
4. Φουντουλάκης Μ. 2005. Τύχη και επίδραση ξενοβιοτικών ουσιών κατά την αναερόβια χώνευση υγρών αποβλήτων και ιλύος. Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστημίου Πατρών.
5. Φουντουλάκης Μ. 2009. Εκτίμηση της δυνατότητας αξιοποίησης της γλυκερίνης για παραγωγή Υδρογόνου και βιοαερίου. Τελική έκθεση, Ιδρυμα Κρατικών Υποτροφιών, ΤΕΙ Κρήτης.
6. Adams, M.W.W. 1990. The metabolism of hydrogen by extremely thermophilic, sulphur-dependent bacteria. *Fems Microbiol. Rev.* 75, 219-237.
7. Alzate-Gaviria, L.M., Sebastian, P.J., Pérez-Hernández, A., Eapen, D. 2007. Comparison of two anaerobic systems for hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste and synthetic wastewater. *Int. J. Hydrogen Energy* 32, 3141-3146.
8. APHA, 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th ed. American Public Health Association, Washington DC, USA.
9. Chang, J.S., Lee, K.S., Lin, P.J. 2002. Biohydrogen production with fixed-bed bioreactors. *Int. J. Hydrogen Energy* 27, 1167-1174.
10. Ito, T., Nakashimada, Y., Senba, K., Matsui, T., Nishio, N. 2005. Hydrogen and ethanol production from glycerol-containing wastes discharged after biodiesel manufacturing process. *J. Biosci. Bioeng.* 100, 260-265.

11. Okamoto, M., Miyahara, T., Mizuno, O., Noike, T. 2000. Biological hydrogen potential of materials characteristic of the organic fraction of municipal solid wastes. *Water Sci. Technol.* 41(3), 25-32.
12. Yazdani, S.S., Gonzalez, R. Anaerobic fermentation of glycerol: a path to economic viability for the biofuels industry. *Curr. Opin. Biotechnol.* 18, 213-219.